

Der Einfluß ganz kurzzeitiger, niedrig
dosierter Kohlenmonoxidexposition auf
Blutrheologie, Thrombozytenfunktion
und Arterienendothel beim
Miniaturschwein

ein Beitrag zur Wirkungsweise
des Kohlenmonoxids als
Angiopathierisikofaktor und
bei akzidentellen und beruflichen
Expositionen

Johann Thaller

*Disz
München
1986*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554808_0067

Aus Institut und Poliklinik für Arbeitsmedizin
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. G. Fruhmann

Der Einfluß ganz kurzzeitiger, niedrig dosierter
Kohlenmonoxidexposition
auf Blutrheologie, Thrombozytenfunktion und Arterienendothel
beim Miniaturschwein

ein Beitrag zur Wirkungsweise des Kohlenmonoxids
als Angiopathierisikofaktor
und bei akzidentellen und beruflichen Expositionen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Johann Thaller
aus
Mühldorf/Inn
1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.med.M.Marshall

Mitberichterstatter: Prof.Dr.med.G.Fruhmann

Dekan: Prof.Dr.med.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 28.01.1986

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Markward Marshall danke ich für die Überlassung des Themas und seine zu jeder Zeit unermüdliche Hilfsbereitschaft.

Mein Dank gilt auch Irmgard Pfaffinger, Ruth Reiser, Josef Frank (†), Helmut Oberhofer und Herrn Aouini für ihre ständige Mithilfe bei den Operationen, den Untersuchungen im Labor, der Arbeit am Rasterelektronenmikroskop und bei der Tierhaltung.

<u>I n h a l t s v e r z e i c h n i s</u>	Seite
I. Einleitung und Zielsetzung	1
II. Literaturübersicht	3
1. Arteriosklerosetheorien	3
2. Thrombozytenfunktionen	6
a) Physiologie	6
b) Pathologie	9
3. Untersuchungen anderer Autoren über die Wirkung von Kohlenmonoxid	13
4. Das Miniaturschwein als Versuchstier in der Arterioskleroseforschung	19
III. Material und Methodik	21
1. Versuchstiere	21
2. Versuchssubstanz	21
3. Versuchsanordnung und -ablauf	22
4. Operationen	25
a) Allgemeines	25
b) Narkose	25
c) Implantation eines zentralvenösen Katheters (ZVK)	25
d) Postoperative Betreuung	28
e) Arterienentnahme	28
5. Vitalfixation	30
6. Aufbereitung der Arterienpräparate	31
7. Bestimmungsmethoden	32
a) Physiologische Parameter (Herzfrequenz, Körpertemperatur)	32
b) Laboruntersuchungen	32
c) Transmissionselektronenmikroskopie	34
d) Rasterelektronenmikroskopie	34
8. Auswertung und Statistik	37

IV.	Ergebnisse	40
	1. Physiologische Parameter - Stressindikatoren	40
	2. Kohlenmonoxid	43
	3. Blutrheologische Parameter	44
	4. Transmissionselektronenmikroskopie	46
	5. Rasterelektronenmikroskopie	47
V.	Diskussion	52
VI.	Zusammenfassung	56
VII.	Literaturverzeichnis	58
VIII.	Lebenslauf	75

I. Einleitung und Zielsetzung

Es ist mittlerweile unbestritten, daß das inhalierende Rauchen neben der arteriellen Hypertonie und der Hypercholesterinämie einen Risikofaktor erster Ordnung für die Arteriosklerose darstellt. Diese ist das pathomorphologische Substrat z.B. des Herzinfarktes, der arteriellen Verschlußkrankheit der Beinarterien sowie zum größten Teil auch des cerebralen Insultes. Die Mortalität durch Erkrankung des Gefäßsystems, besonders der Koronarien, ist in den Ländern der westlichen Hemisphäre an die erste Stelle aller Todesursachen gerückt.

Aus diesem Grunde kommt der Arterioskleroseforschung ein besonderes Interesse zu. Bei der Suche nach den frühesten Veränderungen in der Atherogenese haben die Blutplättchen immer mehr an Bedeutung gewonnen (51,76,85,97,102,115). Mittlerweile gibt es mehrere Hinweise dafür, daß die Thrombozytenadhäsion nicht nur als Reparationsvorgang bei einem verletzten oder veränderten Endothel vorkommt, sondern auch als pathologische Reaktion auf oberflächlich intaktem Endothel, wenn Arteriosklerose-Risikofaktoren einwirken (13,37,71,73,76,84,91,96,97).

Unsere Forschungsgruppe machte sich u.a. zur Aufgabe, die Wirkung des inhalierenden Rauchens in der Entstehung der Arteriosklerose am Tiermodell zu ergründen.

Dabei wurde den Thrombozyten als mögliche Schlüsselfigur in der Atherogenese und dem Kohlenmonoxid als wahrscheinlich besonders wichtigem Bestandteil des Zigarettenrauches für die Pathogenese der Arteriosklerose (9,16,43,76) vorrangige Beachtung geschenkt. Als Tiermodell wählten wir das Miniaturschwein, da dieses sich durch weitgehende Übereinstimmung seiner biologischen Daten, insbesondere des Gefäßsystems, mit denen des Menschen herausragend gut eignet (26,56,72).

Von unserer Forschungsgruppe wurden bereits Untersuchungen durchgeführt, bei denen die Tiere in einer Rauchkammer einem Kohlenmonoxid-Luftgemisch oder Zigarettenrauch exponiert wurden.

Gegen die Verwendung einer solchen Rauchkammer bestanden jedoch methodische Bedenken. Beispielsweise durch Engegefühl in der Kammer, Augenreizung durch Zigarettenrauch und zusätzliche Hautresorption bestanden unkalkulierbare Unsicherheitsfaktoren, insbesondere der erhebliche Versuchsstress.

Zielsetzung der Arbeit war es, die akuten Effekte des CO am Gefäßsystem und an rheologischen Parametern des Blutes zu erforschen. Im besonderen sollten dabei die Probleme und Unsicherheitsfaktoren, die bei der geschlossenen Rauchkammer auftraten, vermindert und der Stress minimiert und kontrolliert werden. Dies sollte durch Verwendung einer dichtschießenden Maske und eines offenen, gut zugänglichen Käfigs gewährleistet werden. So konnten Stressreaktionen der Versuchstiere beobachtet und Stressparameter (Pulsfrequenz, Körpertemperatur) registriert werden.

In gleicher Weise wie mit Kohlenmonoxid wurde simultan eine Versuchsreihe mit Zigarettenrauch durchgeführt. Im Gegensatz zu den früheren Versuchen wurde diesmal eine konstante Zigarettenraucherzeugung mittels vollautomatischer Rauchmaschine (Infibo, Köln) gewährleistet. Die dabei erreichten Kohlenmonoxidspiegel im Blut der Miniaturschweine, sowohl unter Zigarettenrauchexposition als auch unter Kohlenmonoxidexposition, bewegten sich im selben Bereich und entsprachen denen von mittelstarken Rauchern.

II. Literaturübersicht

1. Arteriosklerosetheorien

Eine historische, lange aufrechterhaltene Arteriosklerosetheorie, ist die degenerative Theorie (135,127).

Der wesentliche Inhalt dieser Theorie ist folgender:

Die in arteriosklerotischen Plaques enthaltenen Stoffe erscheinen als degenerative Produkte (fettige und hyaline Degeneration) von inneren Bestandteilen der Arterienwand, wie z.B. Kollagen und Elastin.

Es gibt akzeptable Hinweise für das Vorkommen von echten degenerativen Prozessen im späten Stadium der Entwicklung menschlicher Plaques (135,17,64); und klinische sowie epidemiologische Beobachtungen bestätigen, daß das Altern einen wichtigen Risikofaktor darstellt. Jedoch kommen arteriosklerotische Läsionen auch bei jungen Patienten vor, ohne Hinweise für weitere frühdegenerative Prozesse. Selbst bei Erwachsenen kann ein einfacher degenerativer Prozeß im Inneren der Arterienwand als Mechanismus der Auslösung und Entwicklung der frühen Stadien der Plaquebildung nicht mehr ernsthaft aufrechterhalten werden, zumal es sehr viele Hinweise dafür gibt, daß der Inhalt der Plaques aus dem Plasma kommt.

Seit auch Fibrin in arteriosklerotischen Plaques nachgewiesen werden konnte, vermutete man, daß die Veränderungen von auf der Intima abgeschiedenen Thromben ausgehen, die später in die Arterienwand integriert werden, indem das Endothel darüberwächst. Man glaubte, daß der Lipidanteil in den Plaques vom Zerfall der Leukozyten und Blutplättchen herrührt (79,135).

Von einigen Autoren wurde eine sogenannte insudative Theorie propagiert. Dabei wurde angenommen, daß die Lipide in den arteriosklerotischen Läsionen von einer "Insudation" von Plasma in die Arterienwand herrühren (135).

Die Arbeitsgruppe um Ross sieht die Proliferation der glatten Muskelzellen und ihre Migration in die Intima durch die Lücken der Lamina elastica interna als initiale Veränderung in der Entstehung der Arteriosklerose (102). Zudem gelang es ihnen nachzuweisen, daß aggregierende Thromben im Rahmen einer "release reaction" einen die Proliferation der Mediamuskelzellen anregenden Faktor freisetzen (103,104).

Die Hypothese der Reaktion auf Endothelverletzungen geht zurück auf die Pionierarbeit von Virchow (102). Faktoren wie Hyperlipidämie, hormonelle Dysfunktion und eine erhöhte Scherrate bei Hypertonie verletzen möglicherweise das Endothel und verändern die Beschaffenheit der Endothelbarriere, sodaß gewisse Bestandteile des Blutes in die Arterienwand eindringen können. Dieser Vorgang stört die Endothelzellverbindungen und ermöglicht so den hämodynamischen Kräften, Endothelzellen von der Arterienwand loszulösen. Durch fokale Abschuppung des Endothels kommen die Blutplättchen und andere im Blut zirkulierende Elemente mit der subendothelialen Verbindungsschicht in Berührung.

Die Plättchen haften dem subendothelialen Kollagen an, aggregieren und setzen den Inhalt ihrer Granula frei (102).

Nach Ansicht von Benditt (15,102) stammt jede arteriosklerotische Läsion von einer homologen Generation glatter Muskelzellen ab. Er nimmt an, daß monoklonale Zellverbände am Anfang des Arterioskleroseprozesses stehen und zieht aufgrund übereinstimmender Muster von A- und B-Isoenzymen der x-chromosomal vererbten Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase den Schluß, daß die Arteriosklerose eine Art benigner Tumor sei. Derartige Enzymmuster finden sich nämlich auch in glatten Muskelzellen benigner Tumore.

Neuerdings räumt man den Thrombozyten die Schlüsselrolle in der Entstehung der Arteriosklerose ein. Durch pathologische Reize kommt es zur Aggregatbildung, aber auch zum Anhaften von Thrombozyten auf anscheinend intaktem Arterienendothel. Die Interaktion zwischen Blutplättchen und Arterienendothel scheint gestört zu sein. Dies sei der Anfang in der Entstehung der Arteriosklerose (46,48,49,50,51,76,79,97).

Als ein pathologischer Reiz gilt z.B. der hohe Blutdruck. Durch erhöhte Blutstromgeschwindigkeit ist auch die innere Reibung des Blutes größer, sodaß durch die erhöhte Kraft, mit der die Plättchen miteinander oder mit der Gefäßwand kollidieren, die Aggregation und Adhäsion der Thrombozyten begünstigt wird. Durch eine erhöhte Blutviskosität wird die innere Reibung des Blutes zusätzlich verstärkt (46). Im venösen Gefäßsystem, in dem eine niedrigere Blutströmungsgeschwindigkeit vorliegt, sind keine arterioskleroseähnlichen Gefäßwandveränderungen bekannt. Durch Reize, die modellhaft Risikofaktoren nachahmen, wie z.B. erhöhtes Cholesterin und inhalierendes Rauchen, kommt es im Tierexperiment zur Adhäsion von Thrombozyten auf oberflächlich intakt erscheinendem Endothel. Auch bei lokalem Eisreiz, bei dem eine Kälteangiitis nachgeahmt wurde, kam es in dem betroffenen Segment zum Anhaften von Thrombozyten; desgleichen konnte durch Adrenalinreiz und Stromstoß bewirkt werden (46,47,71,76,78,79,81,85,87,91,96).

2. Thrombozytenfunktion

a) Physiologie

In Ruhe haben die reifen Thrombozyten die Form von ovalen Scheibchen mit einer mittleren Länge von 3 μm . Sie sind bei einer Zahl von etwa 150 000 - 300 000/mm³ nach den Erythrozyten die am häufigsten vorkommenden Blutkorpuskeln. Wegen ihrer geringen Größe haben sie jedoch wenig Einfluß auf die Fließfähigkeit des normalen Blutes; außerdem haben sie normalerweise keine Neigung miteinander zu aggregieren oder an intaktem Gefäßendothel adhärent zu werden.

Die Blutplättchen enthalten beträchtliche Serotoninmengen, ferner Noradrenalin, Adrenalin, Histamin, ADP, Calcium, Kalium, verschiedene Enzyme, andere biologisch aktive Substanzen, Blutgerinnungsfaktoren und Ribonukleinsäure. An der Plättchenoberfläche sind verschiedene Blutgerinnungsfaktoren des Plasmas adsorbiert.

Morphologisch läßt sich an den Thrombozyten ein äußeres homogenes Hyalomer unterscheiden, welches ein - verschiedene Organellen enthaltenes - Granulomer umschließt. Elektronenoptisch läßt sich das Granulomer in ein alpha-Granulomer (Lipoproteine, ThF 3), ein beta-Granulomer (Enzymsysteme des Energiestoffwechsels, Mitochondrien), ein gamma-Granulomer, sowie ein delta-Granulomer (Glykogen-Speichervakuolen) differenzieren.

Im wesentlichen sind die Thrombozyten auf drei Funktionen spezialisiert: die Adhäsion an freiliegende Strukturen verletzter bzw. beschädigter Gefäßwände (Primäradhäsion), die Aggregation, d.h. Haftung an andere, z.B. bereits abgelagerte Thrombozyten zur Bildung großer hämostatischer Pfropfen (Sekundär-Aggregation) und die Sekretion von gespeicherten Mediatoren, welche auf andere Plättchen, aber auch auf das Endothel bzw. das Gerinnungssystem einwirken.

Werden die Thrombozyten aktiviert, so kommt es zur Ausbildung von langen Pseudopodien, wobei aus den primär nicht klebrigen Thrombozyten klettenartige Gebilde werden. Diese können sich an vielen sich bietenden Grenzflächen, aber auch an anderen Thrombozyten, sowie an Tumorzellen, Bakterien und Fremdkörper aller Art anhaften.

Die Aktivierung des kontraktilen und des sekretorischen Apparates der Plättchen erfolgt unter dem Einfluß verschiedener Reize, die an der Membran ansetzen.

Heute bekannte Reize sind - neben unspezifischen Veränderungen durch Kälte und Alkalose - die Wirkung von Thrombin, Adenosin-Diphosphat, Adrenalin und Noradrenalin sowie Serotonin. Serotonin wiederum gehört, wie schon oben angeführt, zu den Substanzen, die im Plättchen gespeichert sind und bei der Aktivierung freigesetzt werden. Diese Wirkstoffe sind in der Lage, Informationen von einem bereits gereizten auf noch ungereizte Plättchen zu übertragen und können so zu einer allgemeinen Aktivierung aller Plättchen beitragen, die in einem bestimmten Gefäßsegment vorhanden sind. Um Aggregate bilden zu können, bedürfen die Thrombozyten nach der Aktivierung einer passiven Kollision miteinander bzw. mit der Gefäßwand. Die Kollision wird durch die Blutströmung herbeigeführt, wobei eine bestimmte Mindestgeschwindigkeit vorliegen muß, um schnell ausreichend große Aggregate zu bilden. Sind die aktivierten Plättchen jedoch einmal miteinander in Kontakt gekommen, haften sie mit Hilfe ihrer Pseudopodien sehr fest aneinander oder an der Gefäßwand.

Auf diese Weise können Plättchen Endotheldefekte reparieren, was man die Pseudoendothelfunktion der Blutplättchen nennt.

Im Anschluß an eine Aktivierung der Thrombozyten wird durch sie auch immer die Blutgerinnung unterstützt. Dies geschieht durch die Freisetzung eines Heparinneutralisierenden basischen Polypeptids (sog. Plättchenfaktor 4) und dadurch, daß Plättchen-Phospholipide

(sog. Plättchenfaktor 3) eine thromboplastische, d.h. eine die Gerinnung ermöglichende Wirkung ausüben. Auf diese Weise wird schon innerhalb weniger Sekunden nach Aktivierung der Plättchen der erste Anstoß zur Fibrinbildung gegeben, die zum normalen Funktionieren des Blutstillungsmechanismus erforderlich ist. Endlich wird durch den Retraktionsprozeß das Fibrin von den in das Fibrinnetz eingelagerten Thrombozyten gewissermaßen "nachgespannt"; so gewinnt der Plättchenpfropf weitere Festigkeit.

Jede Störung der Plättchenfunktion, insbesondere wenn gleichzeitig die Zahl vermindert ist, führt zu Störungen des mikroskopischen oder makroskopischen Blutstillungsvorganges. Umgekehrt scheinen Steigerungen der Plättchenfunktion für degenerative Gefäßerkrankungen und arterielle Thrombosen verantwortlich zu sein (115,117, 46).

b) Pathologie

Als Thrombozytopathie gibt es zum einen Zustände verminderter, als auch gesteigerter Thrombozytenfunktion. Die Bedeutung einer über die Norm hinausgehenden Steigerung der normalen Thrombozytenfunktion, besonders für arteriosklerotisch bedingte Gefäßerkrankungen, hat in letzter Zeit zunehmendes Interesse gewonnen.

Thrombozytenminderfunktionen sind bei vielen hämatologischen Erkrankungen zu finden. Sie führen zu mehr oder weniger ausgeprägten hämorrhagischen Diathesen. Diese Formen der pathologischen Thrombozytenfunktion sollen hier nicht näher erläutert werden.

Von großem Interesse ist jedoch die Feststellung, daß bei einer bloßen Thrombozytopenie, besonders aber bei allen Formen von Thrombozytenfunktionsstörungen, die Gefäßwände durchlässig für einzelne Erythrozyten zu werden scheinen, die sich offenbar zwischen Lücken im Endothel hindurchzwängen können. Diese sog. Diapedeseblutung bei Thrombozytenmangel war der ursprüngliche Hinweis auf die sog. Pseudoendothelfunktion des Thrombozyten, d. h. seiner physiologischen Reparaturfunktion bei trivialen kleinen Endothelschäden.

Es gibt viele Hinweise darauf, daß Arteriosklerose ein, sich an ganz bestimmten Teilen des Gefäßsystems gesetzmäßig abspielender Ablagerungsvorgang ist, der entscheidend auf die Funktion der Thrombozyten zurückgeht. Durch die Strömungskräfte bedingt, kommt es zur Anlagerung von Thrombozyten in großen Gefäßen, hier besonders an Gefäßverzweigungen und in anderen Gegenden unregelmäßiger Strömung, bei denen eine ausgeprägte Bewegung von Blut (und damit von Thrombozyten) in Richtung auf die Gefäßwand vorliegt. (Gefäßverzweigungen, Gefäßbiegungen, Gefäßverengungen, bestimmte Bereiche hinter einer Stenose etc.) (35,42,48,115,117).

Da sowohl Wandfaktoren als auch biochemische Veränderungen des vorbeiströmenden Blutes im Gesamtgefäßsystem wirken können, Arteriosklerose aber nur in Arterien entsteht, kommt offenbar der Biophysik der Blutströmung neben der besonderen Beanspruchung der Arterienwand eine entscheidende Bedeutung zu.

Die Thrombozyten aggregieren umso stärker, je höheren Schubspannungen sie ausgesetzt sind. Diese sind in Arterien höher als in Venen, in denen das Blut viel langsamer strömt. Die wegen der schnellen Strömung ohnehin hohen Schubspannungen im arteriellen System steigen mit zunehmender Viskosität des Blutes noch weiter an (35,46).

Zu den Elementen des strömenden Blutes, die an der Gefäßwand adhärent werden, können neben Blutplättchen, roten und weißen Blutkörperchen (z.B. Monozyten) und Fibrin bei Lipidstoffwechselstörungen offenbar auch noch Fetttropfchen kommen (119).

Die Ansprechbarkeit der Thrombozyten auf bestimmte Reize (siehe 2a) kann bei vielen Gefäßkrankheiten, aber auch bei Stoffwechselerkrankungen, wie z.B. dem Diabetes mellitus und verschiedenen Formen der Hyperlipidämien, gesteigert sein (63,96). Insbesondere ist dies der Fall bei arteriosklerotisch bedingten Gefäßerkrankungen (107). So wurde eine erhöhte Bereitschaft zur Aggregation der Thrombozyten beim Herzinfarkt (30), bei der koronaren Herzerkrankung (121), beim Schlaganfall (55) und bei der peripheren arteriellen Verschußkrankheit nachgewiesen (137). In einer Studie von Ward et alii wurde bei Patienten mit peripherer arterieller Verschußkrankheit in 7 von 46 Fällen eine spontane Thrombozytenaggregation beobachtet, was bei der gefäßgesunden Kontrollgruppe nicht der Fall war. Bei der ADP- und Adrenalin-induzierten Thrombozytenaggregation konnte bei gefäßkranken Patienten im Vergleich zur gefäßgesunden Kontrollgruppe eine hoch signifikant gesteigerte Aggregationsbereitschaft nachgewiesen werden (137). Allerdings sei ein Zusammenhang zwischen Thrombozytenaggregation und arteriosklerotischer Gefäßerkrankung unsicher.

Theoretisch wäre es möglich, daß die Atherome der abnormen Thrombozytenreaktion vorausgingen, da eine turbulente Strömung durch unregelmäßig eingeeengte Gefäße die Blutplättchen ausreichend traumatisieren könnte, um sie in einen Zustand der in vitro erhöhten reizinduzierten Aggregabilität zu versetzen.

Eine andere Möglichkeit wäre, daß die abnorme Plättchenaggregation zuerst vorhanden ist und zur Entwicklung einer Gefäßerkrankung beiträgt. Natürlich könnten die abnorme Thrombozytenfunktion und die degenerative Gefäßerkrankung zwei völlig unabhängige Phänomene sein. Der Nachweis einer gesteigerten Thrombozytenaggregation bei Patienten mit Risikofaktoren, wie Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus und inhalierendem Rauchen (36, 63,74) unterstützt die Theorie, daß die gesteigerte Thrombozytenaggregation und die erhöhte Bereitschaft an der Gefäßwand zu haften, am Beginn einer degenerativen Gefäßerkrankung steht.

Risikofaktoren vermögen Thrombozyten in eine Reizform Überzuführen, in der sie dazu neigen, miteinander zu aggregieren oder an der Gefäßwand oder an anderen Oberflächen zu haften (37,46,49).

Diese Reizformen sind kugelförmig und vermögen Pseudopodien zu bilden und bei Aggregatbildung ineinander zu fließen. Einen physiologischen Auslösefaktor stellt z.B. ein Endotheldefekt dar. Hier bewirkt das freigelegte subendotheliale Kollagen die Überführung der Thrombozyten in ihre Reizform und deren Adhäsion im Defektbereich (37). Dieser wird zunächst ausschließlich durch Thrombozyten abgedeckt, die zugleich das Material zur endgültigen Reparatur des Defektes darstellen.

Die Thrombozyten werden so zum integralen Bestandteil der Gefäßwand. Zudem konnte mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops gezeigt werden, daß pathologische Reize, wie z.B. Risikofaktoren für degenerative Gefäßerkrankungen, Blutplättchen auch auf oberflächlich intaktem Gefäßendothel zum Anhaften bringen (75,76,91).

Djalgetti et al. (28) fanden transmissions- und elektronenmikroskopisch, daß bei einem pH unter 7,4 normale menschliche Blutplättchen sowohl ihre innere Struktur als auch ihr Äußeres ändern, indem sie sphärisch werden, jedoch keine Pseudopodien bilden. Ein pH-Wert über 7,4 bewirkt eine Umformung der inneren Organellen ähnlich wie sie durch Thrombin verursacht wird. Zudem bilden die Blutplättchen im alkalischen Milieu multiple Pseudopodien, was das Aneinanderhaften erleichtert.

3. Untersuchungen anderer Autoren über die Wirkung von Kohlenmonoxid und Zigarettenrauch am Gefäßsystem

Von vielen Autoren wurde versucht, einen Zusammenhang zwischen Rauchen, Kohlenmonoxid und Arteriosklerose herzustellen. So wurden z.B. morphologische autoptische Studien beim Menschen, insbesondere bezüglich des Koronararteriensystems durchgeführt, und Vergleichsstudien bei denen Laboruntersuchungen des menschlichen Blutes durchgeführt wurden, insbesondere bezüglich der Thrombozytenfunktion und des Verhaltens der roten Blutzellen sowie der Blutviskosität. Tierexperimentielle Studien wurden bisher hauptsächlich an Kaninchen, Tauben, Ratten und Affen durchgeführt. Beurteilt wurden meist morphologische Veränderungen der Arterienwand.

Auersbach et al. (14) untersuchten makroskopische und mikroskopische Gefäßveränderungen in den Koronararterien, intramyokardialen Arterien und Arteriolen von 1056 menschlichen Leichen und die Beziehung zum Zigarettenrauchen und Lebensalter. Die makroskopische Studie zeigte eine größere Beziehung zu Atheromen als eine andere (125) bei Autopsien durchgeführte Studie. Mikroskopisch fand sich eine mäßige und fortgeschrittene fibröse Intimaverdickung der Koronararterien öfters bei Rauchern und stand in Relation zum Ausmaß des stattgehabten Zigarettenrauchgenusses. Die bemerkenswertesten Unterschiede je nach Rauchgewohnheit wurden in den Arteriolen des Myokards gefunden. Fortgeschrittene hyaline Verdickung wurde in 90,7 Prozent bei denen gefunden, die mehr als zwei Zigarettenpackungen pro Tag rauchten, in 48,4 Prozent bei denen, die weniger als eine Packung pro Tag und überhaupt nicht bei denen, die niemals regelmäßig geraucht hatten.

Eine andere Studie zeigte, daß der COHb-Spiegel der Tabakraucher einen besseren Indikator für das Arterioskleroserisiko darstellt, als die Raucheranamnese. In der Altersgruppe von 30 bis 69 Jahren wurde bei Personen mit einem COHb-Spiegel von 5% und mehr ein 21mal größeres Arterioskleroserisiko gefunden als bei Personen mit der gleichen Raucheranamnese, aber mit einem COHb-Spiegel unter 3 Prozent. Die prozentuale COHb-Sättigung ist von einer Vielzahl von Faktoren abhängig, wie zum Beispiel von Tabaksorte, der Konzentration von CO im Tabakrauch, der Inhalationstiefe und -frequenz, des pulmonalen CO-Transferfaktors und des CO-Spiegels in der umgebenden Luft (133,134). Fünf Jahre später untersuchte auch Heliövaara et al. (45) die Beziehung der Raucheranamnese und des COHb-Spiegels zu arteriosklerotisch bedingten Erkrankungen an 1068 Personen im Alter von 55 bis 74 Jahren. Randomisierte Messungen des COHb-Spiegels zeigten keine bessere Relation zur Prävalenz arteriosklerotischer Erkrankungen, wie Claudicatio intermittens und koronare Herzerkrankung, als die Raucheranamnese. Eine strengere Beziehung zeigte der COHb-Spiegel zu wahrscheinlich früher stattgehabten Myokardinfarkten. Zweifelsohne verursacht das CO eine Arterienwandhypoxie, die als atherogener Faktor angesehen wurde; aber ohne Kenntnis der Ausmaße und der Lokalisation konnte die Bedeutung von diesem Mechanismus nicht eingeschätzt werden. Durch Computersimulation der menschlichen Arterienwand versuchte man diese Frage zu klären (116). Bei Verwendung von COHb-Spiegeln, wie sie routinemäßig bei Rauchern festgestellt werden, wurde eine signifikante mittlere Hypoxie nachgewiesen. Weil diese COHb-Spiegel nicht konstant sind, wird vermutet, daß die verursachte Hypoxie nicht durch eine erhöhte Vaskularisation kompensiert wird und so einen wesentlich signifikanteren Faktor für die Atherogenese darstellt als die chronische Hypoxie alleine (116).

Ein Einfluß des Kohlenmonoxids auf den Lipidstoffwechsel konnte bislang nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden. Dagegen fand man bei in vitro mit hochkonzentriert COHb-haltigem Blut perfundierten menschlichen Koronararterien eine höhere Cholesterinaufnahme als bei niedrigem COHb-Spiegel (108). Diese Ergebnisse zeigen eine prinzipielle Übereinstimmung mit denen von anderen Autoren, die zeigten, daß CO die Permeabilität der Endothelmembran erhöht (118,129).

Als weiterer Effekt des Kohlenmonoxids wurde der Einfluß auf die Erythrozyten untersucht. Mehrere Autoren (54, 101,106) fanden eine Erhöhung des Hämatokrits nach Zigarettenrauchgenuß, nachgewiesen in Experimenten an Tieren und Menschen. Bierenbaum et al. (16) fanden eine signifikante Erhöhung der in vivo-Plättchenaggregation beim Menschen. Dabei schien der Nikotingehalt der Zigaretten auf diese Tatsache keinen Einfluß auszuüben. Vielmehr scheint das aus dem Rauch resorbierte CO mit den Veränderungen der Plättchenfunktion in Verbindung zu stehen und stellt wahrscheinlich einen wichtigen Faktor innerhalb des schädlichen Rauchens dar (16).

Bereits zwei Jahre zuvor fanden Strolin-Benedotti et al. (124) eine signifikant erhöhte Plättchenadhaesivität bei weiblichen und männlichen Rauchern.

Im tierexperimentellen Bereich widmete sich besonders die Arbeitsgruppe um Astrup den Wirkungen des Kohlenmonoxids am Gefäßsystem. An cholesteringefütterten Kaninchen konnten sie im Vergleich zur Kontrollgruppe bei mit Kohlenmonoxid begasten Tieren (COHb 11-18%) einen 2,5mal höheren Cholesteringehalt der Aorta nachweisen (12). An morphologischen Arterienveränderungen wurden Areale mit ödematöser Intimschwellung, Formationen von subendothelialen Blasen, sowie ein subendotheliales Ödem gefunden. Diese strukturellen Veränderungen wurden in den ersten Veröffentlichungen einer erhöhten Gefäßpermeabilität, die durch Kohlenmonoxid verursacht wurde, zugeschrieben (8).

Kurze Zeit später wurde von derselben Arbeitsgruppe ein Experiment durchgeführt, bei dem normalgefütterte Kaninchen drei Monate lang einer Kohlenmonoxidkonzentration ausgesetzt wurden, die zu einer COHb-Konzentration von 11% führte. Mikroskopisch fanden sich im Vergleich zur Kontrollgruppe bei CO-exponierten Tieren signifikant häufiger fokal degenerative und reparative Gefäßveränderungen. Makroskopisch waren keine Unterschiede erkennbar (136).

Bei Wiederholung des Experiments mit nicht cholesterin-gefütterten Kaninchen nach zehn Jahren konnten diese Ergebnisse nicht mehr bestätigt werden. Dabei war die lichtmikroskopische Auswertung, im Unterschied zu früher, "blind" durchgeführt worden (53).

Auch Stender (122) fand bei Wiederholungen der Experimente keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen CO-exponierten und nicht exponierten Gruppen bezüglich der Aufnahme von Plasmacholesterin in die inneren Schichten der Aortenwand, weder bei hypercholesterinämischen noch bei normocholesterinämischen Kaninchen.

Eine andere Arbeitsgruppe (26) fand bei cholesterin-gefütterten und Kohlenmonoxid exponierten Kaninchen ein deutlich höheres Ausmaß an Koronararteriosklerose als bei nicht CO-exponierten. Ein Unterschied der Plasmaspiegel von Cholesterin und Triglyzeriden wurde nicht festgestellt. Bezüglich des Gehaltes an Triglyzeriden, Cholesterin und Phospholipiden in der Aorta fand sich kein signifikanter Unterschied, was wiederum mit den Ergebnissen der neueren Versuche der Arbeitsgruppe um Astrup übereinstimmt.

Armitage (2) führte eine intermittierende Kohlenmonoxidexposition an normo- und hypercholesterinämischen Tauben durch. Dabei hatte Kohlenmonoxid keinen Störungseffekt bei normocholesterinämischen Vögeln. Hypercholesterinämische Tauben zeigten nach Kohlenmonoxidexposition

eine signifikant stärker ausgeprägte Koronararterien-sklerose als die nicht CO-exponierten. Dieser Unterschied wurde nach 52-wöchiger Exposition gefunden, nicht mehr nach 84 Wochen, was möglicherweise durch einen kompensatorischen Mechanismus oder altersbedingte Veränderungen bei den nicht-exponierten Tieren bedingt war.

Vier Jahre später wiederholte Turner (130,131) diese Versuche in einem erweiterten Programm und konnte die früheren Ergebnisse im wesentlichen bestätigen. Als mögliche Erklärungen für ihre Ergebnisse zieht die Arbeitsgruppe um Turner folgende Wirkungsmechanismen in Betracht: Kohlenmonoxidexposition bewirke möglicherweise die Lipidaufnahme in die Arterienwand durch Beeinflussung der zirkulierenden Lipoproteinspiegel und verursache eine Lipidsekretion der Leber, wie an Ratten gezeigt werden konnte. Demnach sei auch möglich, daß das CO die relative Proportionalität von VLDL, LDL und HDL beeinflusse; eine definitive Aussage darüber könne jedoch nicht gemacht werden, da nur der totale Cholesterinspiegel im Plasma gemessen wurde. Die Möglichkeit, daß das Kohlenmonoxid einen direkten Einfluß auf die Ablagerungen von Lipiden in die subintimale Schicht ausübt, könne nach derzeitigen Erkenntnissen (98,108) ebenfalls nicht ausgeschlossen werden.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Koronararterien von CO-begasteten Affen (*Macaca irius*) wurden von Thomsen (128) durchgeführt. Im wesentlichen fand sich ein subendotheliales Ödem, gelegentlich mit Spalten zwischen den Endothelzellen und eine Infiltration von Zellen - die meisten von ihnen waren monozytenähnlich - in den subendothelialen Raum. Viele dieser Zellen enthielten Lipidtröpfchen. Die Membrana elastica interna und die Myozyten der Media waren unverändert. An CO-exponierten Ratten fand Penney (99) einen rapiden Anstieg der Hämoglobinkonzentration, des Hämatokrits und der Erythrozytenzahl. Die Thrombozytenzahl hingegen

nahm unter CO-Exposition deutlich ab. Zehn bis dreißig Tage post expositionem erreichte das rote Blutbild wieder die Ausgangswerte. Die Thrombozytenzahl stieg mit dem Verschwinden der Polyglobulie.

4. Das Miniaturschwein als Versuchstier in der Arterioskleroseforschung

An ein Tiermodell, das für die Arterioskleroseforschung geeignet ist, werden folgende Ansprüche gestellt:

Es sollte eine weitgehende Ähnlichkeit der für die Entstehung der Arteriosklerose relevanten Parameter zum Menschen bestehen. Insbesondere sollte bei dieser Tierart die Arteriosklerose auch auftreten, ohne daß sie experimentiell erzeugt wird. Diese Voraussetzung erfüllt am besten das Schwein. Es zeigt eine gute Übereinstimmung mit dem Menschen bezüglich Größe, Gewicht, Ernährung, Verdauung und Stoffwechsel mit Neigung zum Fettansatz (56), bezüglich seines Kreislaufs, besonders des Koronararteriensystems, der Blutgerinnung und des Fibrinstoffwechsels und teilweise des Endokrineums (56,126).

Von verschiedenen Autoren (61,141) konnte gezeigt werden, daß das Lipoproteinmuster des Schweines hinsichtlich Zusammensetzung, Verteilung und Altersschwankungen dem des Menschen sehr ähnlich ist.

Beim Schwein tritt, wie beim Menschen, auch eine spontane Arteriosklerose mit sämtlichen Folgen wie ischämischen Infarkten des Herzens und Gehirns auf (25,68,77). Durch histologische und enzymhistochemische Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß der Arteriosklerose des Schweines die gleichen strukturellen Veränderungen zugrunde liegen wie beim Menschen: frühzeitige Intimasklerosen, häufig gekennzeichnet durch ausgeprägte Lipideinlagerungen, welche im fortgeschrittenen Lebensalter zunehmen und nicht selten durch Verkalkungsprozesse der Gefäßwandintima und -media ergänzt werden. Diese Veränderungen konnten im Experiment z.B. durch fettreiche Diäten, besonders mit gesättigten Fetten und Cholesterin, beschleunigt und verstärkt werden (29,105).

Die Eignung des Schweines als Tiermodell für die Arterioskleroseforschung kann heute als erwiesen angesehen werden. Jedoch weist das übliche Hausschwein Nachteile auf.

Die erhebliche Größe, das Gewicht und die Krankheitsanfälligkeit haben für Laboratoriumsbedingungen eine zu kostspielige Haltung und Handhabung zur Folge. Diese Nachteile versuchte man durch Züchtung widerstandsfähiger, laborgerechter und kleinwüchsiger Tiere zu minimieren (27,56).

1958 begannen die Hanford-Laboratorien in den USA mit der Züchtung eines hellhäutigen Laborschweines. Als Zuchtbasis dienten zwei Palouse-Jungsauen und ein Pitman-Moore-Company-Eber. Die erste daraus entstandene Generation wurde mit dem hellhäutigen Sumpfschwein aus Louisiana gekreuzt. Hieraus entstand das Hanford-Miniaturschwein (21).

Ursprünglich speziell für Untersuchungen über die Einwirkung ionisierender Strahlen gezüchtet, stellte das Batelle-Institut in Richmond (USA) im April 1966 einer Arbeitsgruppe in München vier Miniaturschweine für Stoffwechseluntersuchungen zur Verfügung. Seidem wurden sie im Institut für Tierhygiene der Universität München (damaliger Vorstand: Prof. Dr.Dr. J. Kalich) gezüchtet.

Diese Schweinerasse bietet gegenüber dem Hausschwein den Vorteil leichter und billiger Haltung und zeichnet sich durch eine außergewöhnliche Robustheit aus. Beispielsweise im Vergleich zu Primaten ist die Haltung von Minipigs etwa um eine Zehnerpotenz billiger.

Nach eigenen Erfahrungen sind die Tiere in ihrem Verhalten meist relativ ruhig, zahm und zutraulich und gewöhnen sich immer schnell an eine neue Umgebung und die sie betreuenden Personen. Die Boxen konnten betreten werden, ohne bei den Schweinen eine wesentliche Erregung auszulösen, und Manipulationen an den Tieren konnten ohne wesentliche Gefährdung vorgenommen werden.

Im Rahmen von Untersuchungen mit Angiopathiemodellen hat sich das Miniaturschwein bereits außerordentlich bewährt (51,72,73,77).

III. Material und Methodik

1. Versuchstiere

Unsere Forschungsgruppe bevorzugte das Hanford-Miniatur-Schwein, welches seit 1958 als Rasse für experimentielle Zwecke in den USA gezüchtet wird (s.o.).

Zur Verwendung kamen 3-4 Monate alte, durchschnittlich $16,0 \pm 6,2$ kg schwere, männliche, unkastrierte Tiere. Die Unterbringung erfolgte zunächst, soweit möglich, in Einzelstallungen ohne Auslauf. Eine Woche vor Versuchsbeginn wurden die Tiere zur Eingewöhnung in dem dafür vorgesehenen Versuchskäfig gehalten.

Eine fachgerechte Tierhaltung und Pflege wurde durch einen ausgebildeten Tierpfleger gewährleistet.

Als Futter wurde den Tieren zweimal am Tag handelsübliches Schweinemastfutter gegeben (DLG Schweinemastfutter II: 15,6% Rohprotein, 5,9% Zucker, 2,9% Fett, 4,8% Rohfaser).

Die Tiere gewöhnten sich rasch an die Stallungen und die sie betreuenden Menschen. Beim Betreten der Ställe kam es kaum zu Erregungs- oder Fluchtreaktionen der Tiere.

2. Versuchssubstanz

Das Kohlenmonoxid, gemischt mit synthetischer Luft, lag in einer Konzentration von 200 ppm vor. Dieses Gasgemisch wurde von der Firma Linde AG, München, eigens für unsere Zwecke hergestellt und in 40-l-Preßgasflaschen (5400 l geprüftes Gasgemisch) geliefert.

Für die Placeboversuche wurde synthetische Luft verwendet, die ebenfalls, wie oben beschrieben, geliefert wurde.

3. Versuchsanordnung und -ablauf

Um uns mit dem technischen Ablauf vertraut zu machen und um etwaige Mängel am Versuchsaufbau zu beseitigen, führten wir einen Probeversuch durch. Die daraus gewonnenen Daten wurden nicht verwertet.

Im Rahmen dieser Versuchsreihe wurden 5 Tiere einmalig über 4 Stunden Kohlenmonoxid in einer Konzentration von 200 ppm und 5 Tiere einmalig über 4 Stunden Zigarettenrauch exponiert, wobei die CO-Konzentration hier ebenfalls bei 200 ppm gehalten wurde.

Als Kontrollgruppe wurden 5 Schweine synthetischer Luft unter den gleichen äußeren Bedingungen wie bei CO- und Zigarettenrauchexposition ausgesetzt.

Jeweils unmittelbar vor und nach dem Expositionsversuch führten wir eine Blutentnahme durch.

Mit der Gefäßprobenentnahme und Vitalfixation begannen wir wenige Minuten nach Versuchsende.

Zusätzlich wurde ein Remissions- und ein Mehrtageversuch mit jeweils einem Tier durchgeführt.

Beim Remissionsversuch erfolgte eine 4-stündige CO-Exposition mit Blutentnahme unmittelbar vor und nach Exposition. Nach einer Erholungsphase von 7 Tagen führten wir eine erneute Blutentnahme durch und im Anschluß daran die Vitalfixation und Gefäßprobenentnahme.

Beim Mehrtageversuch wurde ein Tier an 4 aufeinanderfolgenden Tagen jeweils 4 Stunden CO exponiert und täglich, vor und nach Exposition, Blut entnommen. Am 4. Tag führten wir wenige Minuten nach Ende des Versuchs die Vitalfixation und Gefäßprobenentnahme durch.

Der Versuch - die Kohlenmonoxid- oder Raumluftexposition - erfolgte jeweils 4 Tage nach operativer Implantation eines zentralvenösen Katheters (s.a. 4 b).

Am Versuchstag erfolgte um 8 Uhr morgens, nach etwa 16 Stunden Nahrungskarenz, die Blutentnahme.

Dann wurde das in einem Stoffwechselkäfig befindliche Versuchstier mit Spannplatten seitlich und von hinten eingeeengt, so daß es nicht ausweichen, sich jedoch noch unbeengt hinlegen konnte. Dies war erforderlich, da bei genügend Bewegungsfreiheit das Tier sich der Maske entledigt hätte.

Die Inhalationsmaske, welche aus Hartgummi gefertigt und in verschiedenen Größen vorhanden war, wurde mit Lederriemen am Hals und am Thorax befestigt.

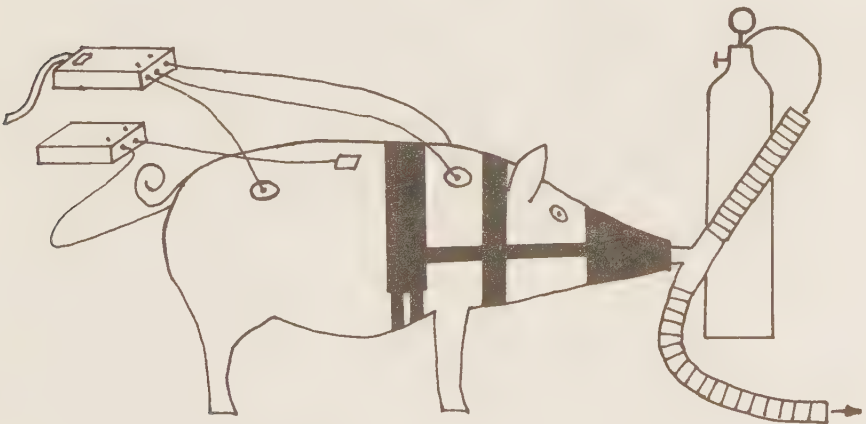
Um ein dichtes Abschließen der Maske am Kopf zu gewährleisten, war an der kopfseitigen Öffnung eine weiche Polsterung angebracht.

Über ein T-Stück wurde die Verbindung mit dem zu- und ableitenden Schlauch hergestellt.

Über einen zuführenden Schlauch wurde entweder synthetische Luft oder ein Gemisch aus synthetischer Luft und Kohlenmonoxid in einer Konzentration von 200 ppm appliziert.

Der ableitende Schlauch wurde ins Freie geführt.

Abbildung 1 : Schema der Versuchsanordnung



Die Tiere tolerierten die räumliche Einengung und die Maske im allgemeinen gut.

Fast alle Tiere legten sich kurz nach Versuchsbeginn hin und standen im weiteren Verlauf wenige Male wieder auf. Drei von zehn Tieren der Eintagsversuche waren zweimal unruhig. Das Tier beim Mehrtageversuch war am ersten Tag über die erste Hälfte der Versuchsdauer mäßig unruhig, die weiteren Tage wurde es zunehmend ruhiger.

Lediglich das Tier des Remissionsversuches war während des gesamten Versuches zeitweise sehr unruhig und entledigte sich zweimal der Maske.

Während des Versuches wurde durch ein EKG (s.a.7.a) viertelstündlich die Herzfrequenz registriert. Ebenfalls viertelstündlich erfolgte elektronisch eine Messung der rektalen Körpertemperatur und der Hauttemperatur (s.a.7.a). Allerdings wurden diese Parameter nicht bei allen Versuchstieren bestimmt. Zu Beginn und in der Mitte des Versuches wurde die CO-Konzentration im Inspirationsschlauch kontrolliert (s.a.7.b). Sie lag zwischen 180 und 190 ppm. Der Versuchsablauf wurde durch eine ständig anwesende Person protokolliert.

Unmittelbar bei Beendigung des Versuches wurde über den liegenden, zentralvenösen Katheder Blut entnommen. Das CO-Hb wurde sofort mit der unter 7.b) beschriebenen Methode bestimmt. Die CO-Hb-Spiegel lagen zwischen 7,3% und 9,7%. Etwa 10 bis 15 Minuten nach Versuchsende wurde das Tier intravenös narkotisiert (s.a.4.b) und die Arterienentnahme (4.e) sowie die Vitalfixation durchgeführt (5.).

4. Operationen

4. a) Allgemeines

Sämtliche Operationen wurden unter aseptischen Bedingungen mit einem in der Humanmedizin gebräuchlichen Instrumentarium durchgeführt.

Dabei standen ein Operateur, eine Assistenz und eine "Instrumentierschwester" in steriler Op-Kleidung und ein Helfer in unsteriler Kleidung zur Verfügung. Es wurde stets ein genaues Operationsprotokoll geführt.

4. b) Narkose

Präoperativ wurden die Versuchstiere 17-20 Stunden nüchtern gehalten.

Sämtliche Narkosen wurden mit einer bisher an unserer Klinik gut bewährten Kombination des Hypnotikums und Muskelrelaxans Methomidat (Hypnodil^R, Jansen-GmbH, Düsseldorf) mit dem Sedativum aus der Butyrophenonreihe Azaperon (Stresnil^R, Jansen-GmbH, Düsseldorf) durchgeführt (70).

Von Azaperon wurden 2-4 mg/kg KG intramuskulär injiziert, von Methomidat zur Narkoseeinleitung 10-12 mg/kg KG intraperitoneal verabreicht. Diese Dosis reichte aus, um einen Vorhofkatheter (s.a.4.c) implantieren zu können.

Für die Operationen zur Vitalfixierung nach Rauch-, CO- oder Raumluftexposition konnte die Narkoseeinleitung i.v. über den liegenden Vorhofkatheter erfolgen. Zur Aufrechterhaltung der Narkose mußte Methomidat in etwa 20-minütigen Abständen nachinjiziert werden.

4. c) Implantation eines zentralvenösen Katheters

Um eine stressfreie Blutentnahme am wachen Versuchstier durchführen zu können, war es notwendig, eine Methode zu finden, bei der während der Blutentnahme kein Schmerzreiz mit nachfolgender Aktivierung des adrenergen Systems gesetzt wird.

Dies war möglich durch einen zentralvenösen Katheter, der operativ über die Vena jugularis externa an den rechten Vorhof vorgeschoben und subkutan zum Rücken verlegt wurde, wo er 6 cm über das Hautniveau herausragte. Nach Donald et al. kommt es bei einer derartigen Blutentnahme zu keinem signifikanten ACTH-Anstieg (69), was gegen eine relevante psychische Belastung spricht. Damit wird weitgehend eine Verfälschung der adrenerg beeinflussten hämatologischen Parameter vermieden (69). Der operationstechnische Ablauf war folgendermaßen: Nach Narkotisierung des Versuchstieres wurde zunächst das Operationsgebiet mit einem elektrischen Haarschneider von den Borsten befreit und dann glatt rasiert. Anschließend wurde das Tier in Rückenlagerung auf dem Operationstisch fixiert. Dies geschah mit eigens für diesen Zweck angefertigten Lederfesseln. Die Desinfektion der Haut wurde mit Merfentinktur durchgeführt. Anschließend erfolgte die sterile Abdeckung des Operationsfeldes.

Ein Querfinger lateral der Verbindungslinie vom Jugulum zum Unterkieferwinkel wurde parallel verlaufend in der Mitte der Distanz ein etwa 8 cm langer Hautschnitt gelegt. Das subkutane Fettgewebe wurde durch Spreizen einer Kornzange stumpf auseinandergedrängt. Dadurch blieb die Operationswunde weitgehend blut trocken.

Nach Darstellung des Muskulus sternomastoideus wurde lateral davon die Vena jugularis ext. aufgesucht und ggf. unter Unterbindung von Nebenästen sauber freipariert. Kranial und kaudal der vorgesehenen Inzisionsstelle wurde das Gefäß mit einem Seidenfaden angeschlossen. Nach Unterbindung der Vene mit dem kranial gelegenen Faden erfolgte nach Maßnahmen mit dem Katheter (zwei Querfinger kaudal des Jugulums bis Inzisionsstelle am Gefäß) die quere Inzision des Gefäßes und Vorbringen des mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllten Katheters bis zur bestimmten Länge. Die Spitze des Katheters kam dabei in der oberen Hohlvene kurz vor der Einmündung in den rechten Vorhof zu liegen.

Nach Prüfen der Durchgängigkeit, insbesondere beim Ansaugen, und eventueller Lagekorrektur, Fixation des Katheters durch Knoten des kaudalen Fadens. Die kranial gelegene Unterbindung wurde zur zusätzlichen Befestigung des Katheters verwendet.

Über einen kleinen Hautschnitt am Nacken wurde eine leicht gebogene Kornzange subkutan zur ventralen Operationswunde vorgeschoben, um den Katheter nach dorsal durchzuziehen. Die dorsale Wunde wurde mit einer Seidennaht verschlossen, die zusätzlich als Haltefaden für den Katheter verwendet wurde.

Nach Einkürzen des Katheters auf ca. 6 cm über der Hautwunde wurde dieser mit 7500 E Heparin (Thrombophob ad injekt., Nordmark-Werke GmbH, Hamburg), verdünnt mit Kochsalz auf 4 ml, aufgefüllt und mit einem sterilen Plastikstöpsel verschlossen. Dieser wurde zusätzlich mit Heftpflaster befestigt.

Der Verschuß der ventralen Operationswunde erfolgte zweischichtig mit Catgut und Seiden-Einzelknopfnähten. Die Operationswunden wurden anschließend mit einem antibiotischen Puder (Refobacin^R-Puder, Fa. E. Merck, Darmstadt) und mit einem atmungsaktiven, antiseptischen Sprühverband (Nobecutan^R-Spray, Astra GmbH, Wedel) versorgt. Diese Art von postoperativer Wundbehandlung hat sich nach den Erfahrungen unserer Forschungsgruppe am besten bewährt. Keines der 19 Tiere aus dieser Versuchsreihe entwickelte einen Wundabszeß.

Das verwendete Kathetermaterial bestand aus Silikon-Kautschuk mit einem Außendurchmesser von 3,5 mm und einem Lumen von 1,5 mm. Der Katheter wurde an der Spitze angeschrägt, mit 4 Markierungen im Abstand von 5 cm versehen, mit Silikonlösung besprüht und bei 160°C 60 Min. trocken sterilisiert.

4. d) Postoperative Betreuung

Nach Implantation des zentralvenösen Katheters wurden die Versuchstiere isoliert gehalten. Um das Tier daran zu gewöhnen, geschah dies bereits in dem für den Versuch vorgesehenen Stoffwechselkäfig der Größe 45 cm x 105 cm, in dem es 4 Tage bis zum Versuchsbeginn verblieb. Die Tiere tolerierten die Isolierung und die räumliche Enge im Käfig sehr gut.

Der zentralvenöse Katheter wurde täglich mit physiologischer Kochsalzlösung durchgespült, auf Durchgängigkeit geprüft und außer am Versuchstag, mit 7500 E Thrombophob, verdünnt auf 4 ml mit physiologischer Kochsalzlösung, gefüllt. Damit konnte eine Thrombosierung der Katheter verhindert werden.

4. e) Arterienentnahme

Unmittelbar nach Ende der CO- oder Raumluftexposition erfolgte nach intravenöser Narkose (wie unter 4.b) beschrieben) die Gefäßentnahme für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung (siehe auch 3.).

Zunächst wurde ein weiterer Katheter (wie unter 4.c) beschrieben) in die kontralaterale Vena jugularis externa oder auch interna gelegt. Daraufhin wurden gleichzeitig die Arteria carotis und femoralis dargestellt und auf einer Länge von 4-5 cm zirkulär freipräpariert. Die Nebenäste wurden mit feiner Seide stammnah unterbunden. So dann wurde in jedem Wundwinkel ein kräftiger Seidenfaden um die Arterie geschlungen und ein Korkplättchen unter den zu entnehmenden Arterienabschnitt geschoben. Nach Unterbindung des Gefäßes zuerst nahe des herzfernen Randes und dann nahe des herznahen Randes erfolgte die Fixation des Gefäßes mit vier Stecknadeln auf der Korkplatte. Damit wurde nach Durchtrennen des Gefäßes mit dem Skalpell an beiden Rändern der Korkplatte eine Verkürzung in longitudinaler Richtung verhindert.

Das herausgenommene Gefäßsegment wurde mit einer feinen Gefäßschere in Längsrichtung eröffnet und an den Ecken und Rändern wiederum in ursprünglicher Größe mit Stecknadeln aufgespannt. Daraufhin wurde sofort die vorsichtige Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung begonnen, um alle nicht adhärennten Blutbestandteile vom Endothel zu entfernen.

Die entnommenen Gefäße wurden nach untenstehenden Kriterien mit den Noten 1 bis 5 bewertet (siehe Tabelle). Von den Gefäßen mit der Note 1 und 2 wurden alle raster-elektronischen Bilder bewertet.

Die Bilder der Gefäße mit der Note 3 wurden nur dann bewertet, wenn der Endothelbefund dem der Noten 1 und 2 entsprach. Die Noten 4 und 5 kamen nicht vor. Von Gefäßen mit dieser Benotung wären nur bei rasterelektro-nenmikroskopisch intakt erscheinendem Endothel Bilder gemacht worden.

Tabelle 1 : Benotungsschema bei Entnahme der Gefäßabschnitte für die rasterelektronen-mikroskopische Untersuchung

Note 1:	Entnahme technisch einfach, rasch, einwandfrei;
Note 2:	Entnahme einwandfrei, aber etwas langwierige Präparation (z.B. Nebenäste);
Note 3:	Entnahme schwierig und langdauernd, aber keine Verletzungen des Gefäßes;
Note 4:	Entnahme sehr schwierig, Abriß von Neben- ästen mit Blutungen;
Note 5:	Traumatisierung des Hauptgefäßes mit star- ken Blutungen.

Die Entnahme der Gefäßpräparate für die Transmissions-elektronenmikroskopie erfolgte nach Beendigung der Vital-fixation (s.a.5.).

Es wurden jeweils ein Segment der noch verbliebenen Arteria carotis comm. und femoralis, sowie der Aorta abdominalis und einer Arteria renalis nach Laparatomie und des Ramus interventricularis der Arteria coronaria sinistra nach Thorakotomie in vorsichtiger und schonender Präparationsweise entnommen und weiterverarbeitet (s.a.6.).

5. Vitalfixation

Nach Gefäßentnahme für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung wurden jeweils in den herznahen Stumpf der Arteria carotis und femoralis ein Katheter eingebracht und mit einer Unterbindung aus Seide befestigt. Die beiden Arterienkatheter dienten als Zulauf, die beiden zentralvenösen Katheter sorgten für den Ablauf der Fixationslösung.

Zunächst wurden 10 000 E Heparin intravenös appliziert. Sodann wurde mit der Infusion von physiologischer Kochsalzlösung über den Arteria carotis-Katheter begonnen. In beide Systeme wurden 5000 E Heparin vorgegeben. Zur gleichen Zeit wurde ein Herzstillstand in der Diastole mit einer intrakardialen Injektion von 10 ml Kaliumchlorid herbeigeführt. Danach wurde sofort die Infusion mit der Fixationslösung über die Arteria carotis und femoralis begonnen. Die Fixation erfolgte über 40 bis 50 Minuten bei einem Perfusionsdruck von 170 cm H₂O (125 mm Hg). Die Perfusionsmenge betrug 6 bis 7,5 l.

Die Fixationslösung wies folgende Zusammensetzung auf:

Glutaraldehyd 2,5 %
Na-Cacodylat-Puffer 0,1 m, pH 7,4
Calcium-Chlorid 0,05 %

Die Lösung wurde am Versuchstag frisch angesetzt und im Kühlschrank auf 5° gekühlt.

6. Aufbereitung der Arterienpräparate

Die für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung vorgesehenen Gefäßpräparate wurden nach Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung folgendermaßen fixiert und entwässert:

30 min in auf pH 7,2 gepufferter Glutaraldehyd-Lösung bei 4°C, dann zweimal 30 min in 30%igem Alkohol, anschließend 12-17 Stunden in 70%igem Alkohol, dann 30 min in 90%igem Alkohol und zuletzt weitere 30 min in absolutem Alkohol.

Um einen möglichst schonenden Übergang in den Bereich des für die Bedampfung und Untersuchung notwendigen Hochvakuums zu gewährleisten, wurden die Präparate im Anschluß an diese Vorbehandlung unter schwachem Vakuum getrocknet. Das fixierte, entwässerte und getrocknete Präparat wurde von der Korkplatte entnommen, auf einen Spezialobjektträger mit Klebstoff befestigt und mit einer Gold- bzw. Kohle-Goldschicht bedampft.

Die transmissionselektronenmikroskopisch zu untersuchenden vitalfixierten (s.5.) Arterienpräparate wurden in eine Pufferlösung (Na-Cacodylat-Puffer 0,1M, pH 7,4; CaCl_2 0,05%) eingebracht und in einer Kühlbox, bei einer Temperatur von 4°C, per Express an Herrn Prof. Staube-sand (Anatomisches Institut der Universität Freiburg i.Br.) zur weiteren Verarbeitung gesandt.

In Freiburg erfolgte eine Nachfixierung in Osmiumtetroxid (OsO_4) in Cacodylatpuffer bei pH 7,4, anschließend Blockkontrastierung mit Uranylazetat und Phosphorwolframsäure, Einbettung in Epon 812 und Ultradünnschnitte mit dem LKB-Ultratom 4800.

7. Bestimmungsmethoden

7. a) Physiologische Parameter (Herzfrequenz, Körpertemperatur)

Die Pulsfrequenz wurde viertelstündlich mit einem EKG bestimmt. Die Ableitung der Stromkurve erfolgte über Klebeelektroden vom Rücken des Tieres und wurde mit dem Einkanal-EKG-Schreiber Simpliskriptor^R (Fa. Hellige, Freiburg i.Br.) aufgezeichnet.

Die Messung der Hauttemperatur erfolgte durch eine auf den Rücken geklebte Sonde. Die Kerntemperatur wurde über eine rektal eingeführte Sonde bestimmt.

Die Registrierung dieses Parameters geschah durch das elektronische Digitalanzeigethermometer HO1-AMEFA (ETW-GmbH, Waldkirch).

7. b) Laboruntersuchungen

Die Messung des Kohlenmonoxidgehaltes in der Luft erfolgte durch Mehrfachmessungen mit dem Dräger Gasspürgerät (Multigasdetektor Modell 21/31, Dräger-Werke, Lübeck).

Der Kohlenmonoxidgehalt im Blut (COHb) wurde mittels einer Methode nach Sachs bestimmt. Dabei wurde aus einer bekannten Menge CO-haltigen Blutes durch Zusetzen von Kaliumhexacyanoferrat (III) CO freigesetzt. Das freigesetzte CO wurde mit 1 Liter CO-freier Luft gemischt. Der CO-Gehalt dieses Gemisches wurde mit Dräger-Röhrchen CO 5/c gemessen und auf den Hämoglobingehalt des untersuchten Blutes bezogen. Die CO-Anzeige beruht auf einer Farbreaktion mit Jodpentoxyd, Selendioxyd und rauchender Schwefelsäure. Der Hämatokrit wurde mit Mikrokapillaren nach Zentrifugieren in einer Hämatokritzentrifuge festgestellt.

Die Erythrozytenflexibilität wurde nach einer Methode von Grigoleit mit einem 5 µm Microporefilter bestimmt.

Die Fibrinogenmessung erfolgte durch die Methode nach Clauss.

Die Thrombozytenzahl wurde durch direkte Zählung in der Neubauer-Zählkammer bestimmt.

Gemäß den Vorschriften des PAT I nach Breddin wurde die spontane Plättchenaggregation getestet (18,19). Unter Berücksichtigung der Bedingungen beim Miniaturschwein waren die Beurteilungskriterien, wie in Abb.2 angegeben, abgewandelt worden (90).

Stufe

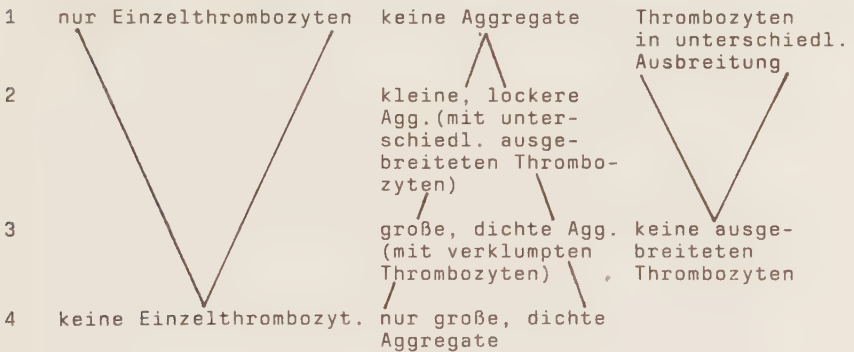


Abb. 2 : Stufeneinteilung und Beurteilungskriterien für den PAT I nach Breddin in Abwandlung für die Bedingungen beim Hanford-Schwein (90)

Die Blut- und Plasmaviskosität wurde aus EDTA-Blut mit dem Wells-Brookfield-Viskosimeter, in einer Modifikation nach Schmid-Schönbein, bestimmt. Die Messung erfolgte bei Scherraten von 60 Umdrehungen pro Minute und 6 Upm, was grob den Verhältnissen des präkapillären Arterienbereiches bzw. der kapillären Endstrombahn angenähert ist.

Zur Bestimmung der Adhäsivität der Thrombozyten wurde der Fasertest nach Jacobi durchgeführt.
Bei diesem Test werden innerhalb von 30 Sekunden 1,04 ml Citratblut über einen Nylon-Faden perfundiert und die Menge des am Faden haften gebliebenen Proteins nach vorheriger Hämolyse mit Hilfe des Folinreagens nach Lowry bestimmt.

7. c) Transmissionselektronenmikroskopie

Nach Vitalfixation (s.a.III.5.) wurden die Präparate zum Transport in Pufferlösung (Na-Cacodylat-Puffer 0,1 M, pH 7,4; CaCl_2 0,05%) gegeben und in einer Kühlbox, bei einer Temperatur von etwa 4°C, per Express an Herrn Prof. Staubesand (Anatomisches Institut der Universität Freiburg i.Br.) zur weiteren Aufbereitung gesandt.

Dort erfolgte eine Nachfixierung in Osmiumtetroxid (OsO_4) in Cacodylatpuffer bei pH 7,4; Blockkontrastierung mit Uranylazetat und Phosphorwolframsäure. Nach Einbettung in Epon 812 wurden Ultradünnschnitte mit dem LKB-Ultratom 4800 angefertigt. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit dem EM 9-S bzw. dem EM 10-S (beide Zeiss) bei 5000-10000facher Primärvergrößerung ausgeführt.

7. d) Rasterelektronenmikroskopie

Die Gefäßproben wurden wie unter Kap. III.6. beschrieben präpariert.

Die Untersuchungen erfolgten mit dem Rasterelektronenmikroskop vom Typ Stereoscan Mark II, das nach folgendem Prinzip arbeitet:

Ein von drei elektromagnetischen Linsen auf etwa 100-200 Å gebündelter Elektronenstrahl wird von elektrisch gesteuerten Ablenkspulen in rascher Folge in 1000 Zeilen über einen quadratischen Flächenabschnitt des Objekts geführt. Die auf der Präparatoberfläche auftreffenden Elektronen des Primärstrahls werden teils absorbiert, teils reflektiert.

Entscheidend für den Bildaufbau im Rasterelektronenmikroskop sind jedoch nicht die reflektierten Elektronen, sondern die unter der Wirkung des Primärstrahls entstehenden energiearmen Sekundärelektronen, von denen eine Anzahl von einem Fänger aufgenommen und einem Szintillator zugeführt wird.

Zwischen dem Probenhalter und dem Gitter des Fängers liegt eine regelbare Spannung von -30 bis +200 Volt, zwischen Gitter und Szintillator von 12 kV. Die Intensität der vom Szintillator weitergeleiteten Signale ist der Anzahl aufgenommener Sekundärelektronen proportional. Diese Signale dienen dann zur Steuerung der Helligkeit des Bildpunkts einer Kathodenstrahlröhre, die mit dem Rastervorgang des Primärstrahls synchronisiert ist und das Bild Zeile für Zeile aufbaut.

In der Praxis stehen zwei Röhren zur Verfügung, eine mit einem lange nachleuchtenden Bildschirm zur visuellen Beobachtung, und eine zweite zur fotografischen Aufnahme des Bildes.

Die Ausbeute an Sekundärelektronen ist im wesentlichen von drei Faktoren abhängig:

- vom Winkel zwischen Primärstrahl und Probe. Trifft der Primärstrahl senkrecht auf das Präparat, so ist die Zahl der auf den Elektronenfänger gelangenden Sekundärelektronen sehr gering. Eine gute Ausbeute erzielt man dagegen, wenn der Primärstrahl unter einem spitzen Winkel auf die Probe

- trifft. Bei unseren Untersuchungen betrug der Winkel -45° (Altgrad = $-0,79$ rad (Radiant)).
- Die Anzahl der entstehenden Sekundärelektronen ist von der Leitfähigkeit der Objektoberfläche bestimmt. Von biologischen Objekten sind daher nur gute Abbildungen zu erhalten, wenn deren Oberfläche mit einer entsprechenden leitenden Schicht versehen ist. Bewährt hat sich die Bedampfung mit Gold bzw. mit Kohle und Gold.
 - Die Sekundärelektronenstrahlung wird weiterhin durch das Relief der Präparatoberfläche beeinflusst. Jedes Hindernis zwischen dem anregenden Elektronenstrahl und dem Fänger verringert die Anzahl der Sekundärelektronen, die auf den Fänger gelangen und gibt dadurch jedem Bildpunkt seine individuelle Intensität.

Die Vergrößerung, die stufenweise zwischen $20 : 1$ und $100.000 : 1$ - in besonders günstigen Fällen noch höher - variiert werden kann, wird durch eine Verminderung der Spannung in den Ablenkspulen erreicht. Dabei tastet der Primärstrahl ein immer kleiner werdendes quadratisches Feld ab.

Die Präparate wurden einheitlich nach einem Zick-Zack-Raster untersucht. An jeder Ecke der Zick-Zack-Linie wurde eine Übersichtsaufnahme und zwei Aufnahmen in Vergrößerung, die sich zur Thrombozytenidentifikation eignen, angefertigt.

8. Auswertung und Statistik

Die Auswertung der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen wurde streng blind durchgeführt, um eine bestmögliche Objektivität zu gewährleisten. Die Versuchsreihenfolge wurde ausgewürfelt, und jedes Präparat erhielt eine fortlaufende Nummer. Der Schlüssel zur Identifikation der Präparatenummern wurde beim Versuchsleiter unter Verschuß gehalten und erst herausgegeben, als alle Aufnahmen nach dem unten beschriebenen Schema befundet waren. Die Art des Versuchs, von dem die Präparate stammten, war weder beim Fotografieren noch bei der Auswertung der Aufnahmen bekannt. Die Aufnahmen wurden von zwei Untersuchern getrennt befundet und das Ergebnis schriftlich fixiert.

Auf den rasterelektronenmikroskopischen Bildern des Endothels des Minischweins lassen sich zahlreiche oval rundliche oder bauchige Erhabenheiten in einer Ausdehnung von $14 \times 10 \mu\text{m}$ erkennen, die den Endothelzellkernen entsprechen. Diese Zellkerne wiesen unter den Versuchsbedingungen eine starke Formvariabilität auf.

Kugelig in das Lumen ragende Gebilde mit einem Durchmesser von 4 - 5 μm wurden meist als abschilfernde Endothelzellen (Schrumpfnekrose) identifiziert. Ähnliches Aussehen könnten allerdings auch adhärente monozytäre Element haben.

Die Thrombozyten stellen sich als 1-3 μm große Gebilde dar, teils einzeln, teils in Zusammenballung. Ihre Ruheform (mittlerer Längsdurchmesser 2,4 μm , mittlerer Querdurchmesser 1,7 μm , diskoid, glatte Beschaffenheit) unterscheidet sich deutlich von ihrer viskösen Metamorphose, der sogenannten Reizform (mittlerer Längsdurchmesser 2,1 μm , mittlerer Querdurchmesser 1,3 - 1,7 μm , Pseudopodien bis zu 3 μm lang). Die manchmal sehr dichte Vernetzung der Pseudopodien ist von Fibrinfäden schwer abzugrenzen.

Die Erythrozyten sind glatt und bikonkav mit einem Durchmesser von $5,3 \pm 0,5 \mu\text{m}$.

Die Leukozyten besitzen eine zottige, kugelige Oberfläche und weisen einen Durchmesser von $5,2 \pm 1,2 \mu\text{m}$ auf.

Die Auswertung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurde anhand eines siebenstufigen Beurteilungsschemas durchgeführt (Tab. 2).

Tabelle 2: Beurteilungsschema für die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen

Thrombozyten	Stufe	Monozytäre Elemente
sicher keine Thrombozyten adhärent	1	sicher keine monozytären Elemente
möglicherweise einzelne Thrombozyten (oder Auf- lagerungen von einzelnen Thrombozytenruheformen)	2	möglicherweise ein- zelne monozytäre Elemente
typische Adhärenz von ein- zelnen Thrombozyten (Reiz- form) (≤ 3)	3	sicher Adhärenz typischer einzel- ner monozytärer Elemente (1-3)
mehrere adhärente Einzel- thrombozyten (>3)	4	mehrere einzelne monozytäre Elemente (4-5)
mäßig viele (>10) Thrombo- zytenadhäsionen über den gesamten Bildausschnitt ver- teilt	5	reichlich (6-10) mono- zytäre Elemente
reichlich Thrombozytenad- häsionen über den gesamten Bildausschnitt verteilt	6	
massenhaft Thrombozyten- adhäsionen (Thrombozyten- thromben)	7	sehr viele monozytäre Elemente (>10)

Tabelle 3 : Beurteilungsschema für die raster-
elektronischen Aufnahmen

Endothel	Stufe	Fibrin
sicher intaktes, normales Endothel	1	sicher keine Fibrin- auflagerungen
keine eindeutigen Endo- thelveränderungen (wahr- scheinlich intakt)	2	keine eindeutigen Fibrin- auflagerungen
gering verändertes Endo- thel mit deutlich vorge- wölbten Endothelzellker- nen; deutlich feingranu- läre Aufwerfungen über den Endothelzellkernen (apikales Ödem)	3-4	geringe Fibrinauf- lagerungen
Spaltbildungen zwischen den Endothelzellen; auf- geworfene Endothelzell- ränder (Segel), einzelne Endothelzellablösungen bis Schrumpfnekrosen	5-6	stärkere, über den ganzen Bildausschnitt verteilte Fibrinauflagerungen
stark verändertes Endothel mit umfangreichen Endothel- zellablösungen und Schrumpf- nekrosen	7	massive, dicke Fibrin- auflagerungen im gesamten Bildausschnitt (Fibrin- thrombus)

Die Standardabweichungen wurden als einfache Sigmagrenzen
($\pm s$) angegeben.

Die Prüfung auf statistische Signifikanz erfolgte mit dem
t-Test nach Student zum Vergleich von Versuchspaaren bei
etwa normal verteilten, metrischen Einzelwerten und etwa
vergleichbarer Varianz der Versuchsgruppen. Als Signifi-
kanzgrenze galt $p < 0,05$.

IV. Ergebnisse

1. Physiologische Parameter - Stressindikatoren

Bei der Tierbeobachtung wurde die äußere Unruhe der Tiere registriert. Sie korrelierte immer mit einem deutlichen Anstieg der Herzfrequenz. Die Tiere der Eintagsversuche legten sich fast alle kurz nach Versuchsbeginn hin und standen im weiteren Verlauf wenige Male wieder auf. Drei von zehn Tieren der Eintagsversuche waren zweimal für wenige Minuten unruhig. Dies äußerte sich darin, daß die Schweine energische Bewegungen machten und sich teilweise der Maske entledigen wollten, was in keinem dieser Fälle geschah. Lediglich das Tier des Remissionsversuches, ein mit 8,7 kg (Durchschnittsgewicht der Versuchstiere 16 kg) sehr kleines und junges Schwein, war ein Viertel der Versuchsdauer sehr unruhig und konnte sich zweimal der relativ zu großen Maske entledigen.

Das Tier des Vier-Tage-Versuches war am 1. Tag über 2 1/2 Std. mäßig unruhig und legte sich dann hin. Die weiteren Tage wurde es je zweimal unruhig, wobei die Intensität der Unruhe täglich geringer wurde.

Am Beispiel des 3. Tages des Vier-Tage-CO-Versuches wird gezeigt, wie Herzfrequenz und Verhalten des Versuchstieres korrelierten (Tab. 4).

Tabelle 4 : Gegenüberstellung von Herzfrequenz und Verhalten

Uhrzeit	Herzfreq.	Verhalten	Uhrzeit	Herzfreq.	Verhalten
8 15	136	nach Anleg.d.	10 30	178	aufgest., unruh.
8 30	128	Maske	10 45	135	liegt wieder
8 45	125		11 00	130	
9 00	110	liegt ruhig	11 15	148	aufgestanden
9 15	110		11 30	112	liegt wieder
9 30	115		11 45	112	
9 45	102		12 00	95	
10 00	115		12 15	128	nach Blutentn.
10 15	117				

Die durchschnittliche Herzfrequenz von 6 CO-Versuchen wird in Abb. 3 gezeigt. Die Herzfrequenz, Rektal- und Hauttemperatur eines Kontrollversuches (synthetische Luft) wird in Abb. 4 bis 6 dargestellt.

Abb. 3 : Durchschnittliche Herzfrequenz unter
CO-Exposition (n=6)



Abb. 4 : Herzfrequenz unter Exposition von
synthetischer Luft (n=1)

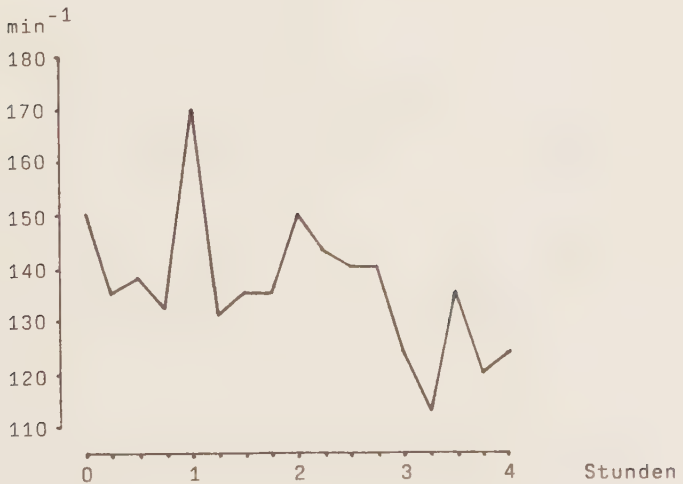


Abb. 5 : Hauttemperatur unter Exposition von synthetischer Luft (n=1)

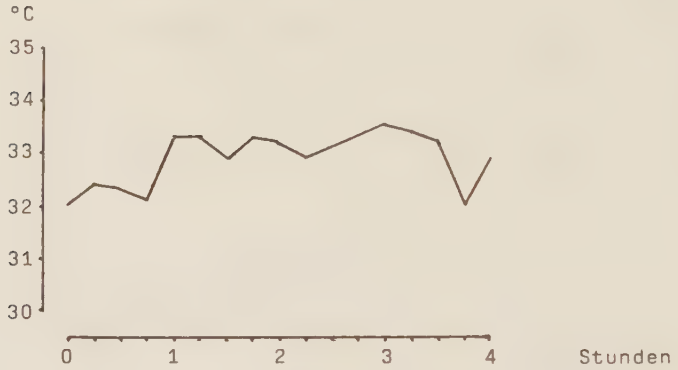
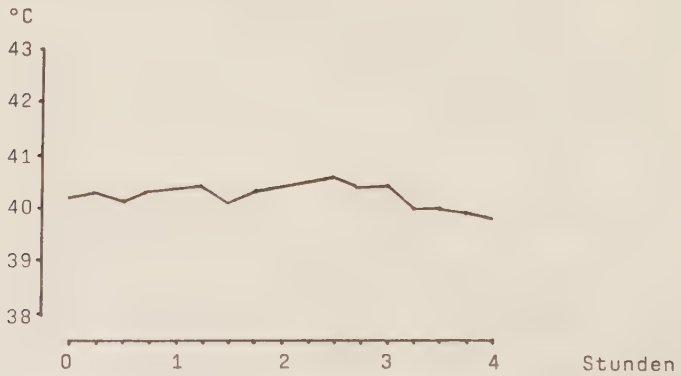


Abb. 6 : Rektale Temperatur unter Exposition von synthetischer Luft (n=1)



2. Kohlenmonoxid

Die Messungen der Kohlenmonoxidkonzentrationen im Inspirationsschlauch ergaben Werte zwischen 170 und 200 ppm, wobei meist Werte um 180 ppm gemessen wurden. Der Mittelwert betrug $\bar{x} = 184 \pm 13,5$ ppm, $n = 10$.

Die damit erreichten Kohlenmonoxidspiegel im Blut (COHb) lagen zwischen 7,3 und 9,7%. Der Mittelwert von COHb betrug $\bar{x} = 8,0 \pm 1,4\%$, $n = 10$.

3. Blutrheologische Parameter (Tab. 4)

Bei der Kontrollgruppe mit Exposition synthetischer Luft fand sich am Versuchsende, verglichen mit den Werten bei Versuchsbeginn, eine signifikante Erhöhung der Erythrozytenflexibilität, sowie eine jeweils signifikante Erniedrigung der Blutviskosität bei einem Schergrad von 60 s^{-1} und der Thrombozytenadhäsivität (Fasertest). Nach CO-Exposition zeigte sich gegenüber dem Ausgangswert eine signifikante Erhöhung der Plättchenaggregation nach PAT I. Die übrigen Parameter zeigten keine signifikanten Veränderungen.

Tabelle 4: Verhalten rheologischer Parameter unter synthetischer Luft (SL) und Kohlenmonoxidexposition (CO); Werte vor und nach Versuch

	Einheit	SL-Exposition $\bar{x} \pm s$ (n=5)	CO-Exposition $\bar{x} \pm s$ (n=5)
Thrombozyten	mm ⁻³	383800 $\rightarrow$ 380800 +3213 +2998	431400 $\rightarrow$ 436800 +584 +1390
PAT I	Stufen	2, 3 $\rightarrow$ 0, 83 $\rightarrow$ 2, 1 $\rightarrow$ 0, 82	2, 5 $\rightarrow$ 0, 6 $\rightarrow$ 3, 1 $\rightarrow$ 0, 5**
Hämatokrit	Vol %	34, 5 $\rightarrow$ 4, 3 $\rightarrow$ 35, 2 $\rightarrow$ 5, 1	36, 0 $\rightarrow$ 4, 0 $\rightarrow$ 35, 5 $\rightarrow$ 3, 6
Ery.-Flexibilität	ml. min ⁻¹	0, 91 $\rightarrow$ 0, 30 $\rightarrow$ 1, 10 $\rightarrow$ 1, 28***	1, 13 $\rightarrow$ 0, 35 $\rightarrow$ 1, 17 $\rightarrow$ 0, 46
Fibrinogen	mg/100ml	497 $\rightarrow$ 132 $\rightarrow$ 507 $\rightarrow$ 124	545 $\rightarrow$ 126 $\rightarrow$ 551 $\rightarrow$ 122
Blutviskosität			
Schergrad 60 s ⁻¹	cp=mPa·s	4, 46 $\rightarrow$ 0, 80 $\rightarrow$ 4, 12 $\rightarrow$ 0, 37**	4, 23 $\rightarrow$ 0, 56 $\rightarrow$ 4, 18 $\rightarrow$ 0, 45
Schergrad 6 s ⁻¹	cp "	13, 71 $\rightarrow$ 7, 82 $\rightarrow$ 15, 16 $\rightarrow$ 9, 99	9, 85 $\rightarrow$ 3, 6 $\rightarrow$ 9, 34 $\rightarrow$ 1, 26
Plasmaviskosität			
Schergrad 60 s ⁻¹	cp "	2, 50 $\rightarrow$ 0, 78 $\rightarrow$ 2, 49 $\rightarrow$ 0, 58	2, 06 $\rightarrow$ 0, 63 $\rightarrow$ 1, 82 $\rightarrow$ 0, 16
Schergrad 6 s ⁻¹	cp "	8, 83 $\rightarrow$ 5, 0 $\rightarrow$ 6, 94 $\rightarrow$ 2, 8	3, 53 $\rightarrow$ 1, 75 $\rightarrow$ 3, 10 $\rightarrow$ 1, 05
Fasertest	µg pp ¹	22, 7 $\rightarrow$ 0, 5 $\rightarrow$ 21, 8 $\rightarrow$ 0, 5***	21, 72 $\rightarrow$ 5, 17 $\rightarrow$ 23, 06 $\rightarrow$ 4, 12

¹µg Plättchenprotein

Signifikanz * p<0,10; ** p<0,05; *** p<0,01

4. Transmissionselektronenmikroskopie

Bei der noch als vorläufig zu betrachtenden semiquantitativen Blindauswertung der transmissionselektronenmikroskopischen Bilder zeigten sich bei den CO-exponierten Tieren gegenüber der Kontrollgruppe mit Raumluft deutliche Veränderungen (in Zusammenarbeit mit Prof. Staubesand, Freiburg, s.a.III.4.e), 6.u.7.c)). Es fanden sich Adhäsionen von Thrombozyten und Überwiegend von mononukleären Zellen, die intraendothelialen Schädigungsherden zugeordnet werden konnten. Es traten deutliche Vakuolisierungen des Zytoplasmas der Endothelzellen (Ödem) sowie einzelne osmophile Schrumpfnekrosen auf (s.Tab. 5).

Tabelle 5 : Transmissionselektronenmikroskopische Befunde der initialen Endothelveränderungen (SL=Synthetische Luft)

	SL	CO
Mononukleäre Zellen	+	++
Vakuolisierung des Zytoplasmas	Ø	+
Osmophile Schrumpfnekrosen	Ø	+
Thrombozytenadhäsionen	Ø	+

5. Rasterelektronenmikroskopie (Tab.6 - 9; Abb.7 und 8)

Bei der systematisierten Blindauswertung der raster-elektronenmikroskopischen Bilder (s.a.III.7.d)u.8.) fanden sich bei einmal 4 Stunden CO-exponierten Tieren im Vergleich zu den Kontrollversuchen mit synthetischer Luft deutlich mehr Thrombozyten, Monozyten und Fibrin dem Endothel aufgelagert; auch das Endothel selbst wies öfters Veränderungen auf. Dabei war der Unterschied bei den Monozyten am wenigsten ausgeprägt.

Die Bilder des Langzeitversuches (s.a.III.3.) zeigten im Vergleich zu den Kurzzeitversuchen keine wesentlichen Unterschiede.

Beim Regressionsversuch (s.a.III.3.) fanden sich deutlich weniger Thrombozyten als bei den CO-Akutversuchen, wobei sich Monozytenzahl, Endothelveränderungen und Fibrinablagerungen etwa gleich blieben.

Die folgenden Tabellen 6 bis 9 zeigen die Ergebnisse der Auswertung der rasterelektronischen Bilder nach dem Schema wie unter III.8. angegeben. Es wird die absolute und relative Häufigkeit angegeben.

Tabelle 6 : Thrombozyten

Stufe	Synthet. Luft	CO	CO-Langzeit	Regression
I	128/ 47,1%	73/ 16,0%	19/ 15,8%	37/ 28,7%
II	92/ 33,8%	158/ 34,6%	38/ 31,7%	68/ 52,7%
III	48/ 17,6%	156/ 34,1%	39/ 32,5%	24/ 18,6%
IV	4/ 1,5%	60/ 13,1%	24/ 20,0%	0/ 0,0%
V	0/ 0,0%	10/ 2,2%	0/ 0,0%	0/ 0,0%
VI	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%
VII	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%
Summe	272/100,0%	457/100,0%	120/100,0%	129/100,0%
n	191	221	57	79
$\bar{x}$	1,4	2,1	2,1	1,6

Tabelle 7 : Monozyten

Stufe	Synthet. Luft	CO	CO-Langzeit	Regression
I	96/ 28,8%	73/ 15,6%	11/ 8,2%	27/ 17,4%
II	102/ 30,7%	142/ 30,1%	38/ 28,4%	60/ 38,7%
III	123/ 36,9%	174/ 36,7%	69/ 51,5%	60/ 38,7%
IV	12/ 3,6%	48/ 10,2%	16/ 11,9%	8/ 5,2%
V	0/ 0,0%	35/ 7,4%	0/ 0,0%	0/ 0,0%
VI	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%
VII	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%
Summe	333/100,0%	472/100,0%	134/100,0%	155/100,0%
n	191	221	57	79
$\bar{x}$	1,7	2,1	2,4	2,0

Tabelle 8 : Endothel

Stufe	Synthet.Luft	CO	CO-Langzeit	Regression
I	109/ 37,3%	31/ 4,8%	18/ 16,1%	16/ 8,5%
II	144/ 49,3%	106/ 16,4%	56/ 50,0%	64/ 33,8%
III	18/ 6,2%	237/ 36,8%	24/ 21,4%	54/ 28,6%
IV	0/ 0,0%	84/ 13,0%	4/ 3,6%	40/ 21,2%
V	15/ 5,1%	175/ 27,1%	10/ 8,9%	15/ 7,9%
VI	6/ 2,1%	12/ 1,9%	0/ 0,0%	0/ 0,0%
VII	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%
Summe	292/100,0%	645/100,0%	112/100,0%	189/100,0%
n	191	221	57	79
$\bar{x}$	1,5	2,9	2,0	2,4

Tabelle 9 : Fibrin

Stufe	Synthet.Luft	CO	CO-Langzeit	Regression
I	163/ 70,3%	87/ 21,0%	28/ 30,1%	22/ 14,2%
II	36/ 15,5%	196/ 47,4%	44/ 47,3%	88/ 56,8%
III	24/ 10,3%	72/ 17,4%	21/ 22,6%	30/ 19,3%
IV	4/ 1,7%	20/ 4,8%	0/ 0,0%	0/ 0,0%
V	5/ 2,2%	15/ 3,6%	0/ 0,0%	15/ 9,7%
VI	0/ 0,0%	24/ 5,8%	0/ 0,0%	0/ 0,0%
VII	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%	0/ 0,0%
Summe	232/100,0%	414/100,0%	93/100,0%	155/100,0%
n	191	221	57	79
$\bar{x}$	1,2	1,9	1,6	2,0

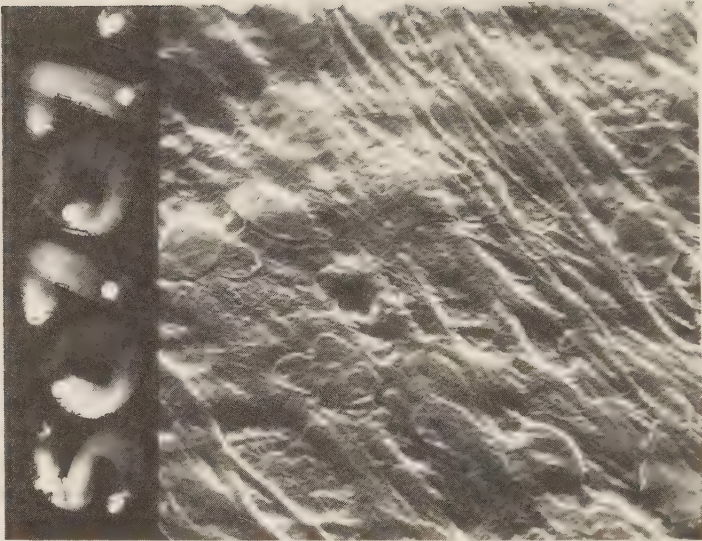


Abb. 7: Innenfläche der Arteria carotis communis eines zweieinhalb Monate alten Miniaturschweines nach einmaliger vierstündiger Exposition gegenüber synthetischer Luft.

Es zeigt sich ein intaktes Endothel mit physiologischer Längsfältelung ohne Auflagerung von Thrombozyten oder Fibrin. Die ovalen, leicht erhabenen Gebilde entsprechen Endothelzellkernen.

REM-Vergrößerung 1:1700, Archiv-Nr. 50 707

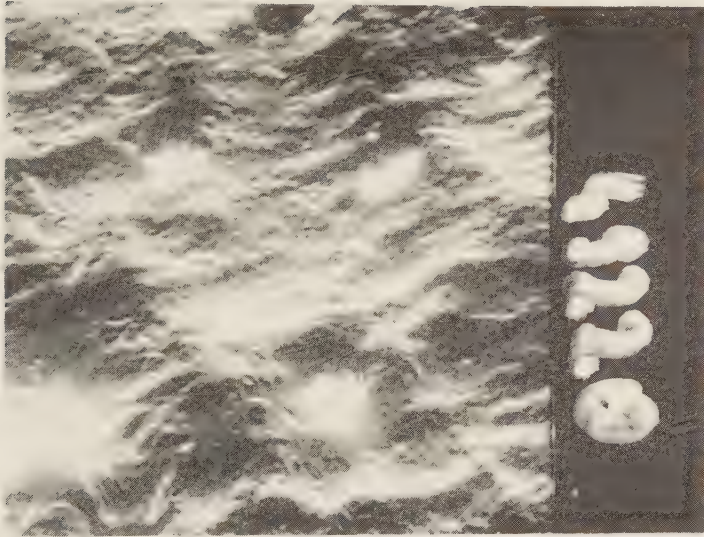


Abb. 8: Innenfläche der Arteria femoralis eines drei Monate alten Miniaturschweines nach einmaliger vierstündiger Exposition gegenüber Kohlenmonoxid.

Weitgehend intaktes Endothel mit drei typischen wandadhärenten Thrombozyten in visköser Metamorphose, sowie fragliche geringe Fibrinauflagerungen.

REM-Vergrößerung 1:5000, Archiv-Nr. 49 220

V. Diskussion

Die hervorragende Eignung des Miniaturschweines für die experimentelle Medizin (s.a.II.4.) wurde von vielen Autoren belegt (25,56,61,68,72,73,77,126,141).

Die im Mittel erreichten COHb-Spiegel lagen bei $8,0 \pm 1,4\%$. Dies entspricht den Werten, die bei mittelstarken Rauchern gefunden wurden (13,111,113,133,134).

Der Faktor Stress spielte bei diesen Versuchen keine bedeutende Rolle. Dies zeigte sich am Verhalten der Tiere, sowie an der Herzfrequenz, Rektal- und Hauttemperatur. Daß Stress und Herzfrequenz korrelieren, konnte durch Gegenüberstellung von Verhalten und entsprechender Herzfrequenz gezeigt werden.

Lediglich ein Tier (Regressionsversuch) war deutlich unruhiger als die anderen. Die Ursache dafür lag sicherlich darin, daß das Schwein zu jung war; es wog nur 8,7 kg bei einem durchschnittlichen Gewicht von 16 kg sämtlicher übriger Versuchstiere. Dadurch konnte die Inhalationsmaske nicht sicher und dicht angelegt werden.

Bei den Kontrollversuchen mit synthetischer Luft kam es zu einer signifikanten Erhöhung der Erythrozytenflexibilität, sowie zu einer jeweils signifikanten Erniedrigung der Blutviskosität und der Thrombozytenaggregabilität; nach CO-Exposition zeigte sich keine Veränderung dieser Parameter. Diese "Besserung" rheologischer Parameter unter Exposition gegen synthetische Luft wurde bei früheren Untersuchungen nicht festgestellt (88). Eine definitive Erklärung für diese Veränderung kann vorerst nicht gegeben werden. Eine Erniedrigung der Blutviskosität könnte z.B. am ehesten durch ein Abfallen des Hämatokrits erklärt werden, dieser blieb jedoch unbeeinflusst. Vacca et al. wiesen eine Viskositätsabnahme unter willkürlicher Hyperventilation nach. Bei Beobachtung war keine eindeutige Hyperventilation der Versuchstiere aufgefallen; eine Messung der Atemfrequenz und

Atemtiefe erfolgte jedoch nicht. (Besonderheiten der "synthetischen Luft" wären niedrige Temperatur durch Dekompression, geringe Feuchtigkeit und fehlendes CO_2).

Bei einem Versuchstier haben wir vor und nach Exposition gegen synthetische Luft die venösen Blutgase bestimmt (in den Ergebnissen nicht aufgeführt); dabei zeigte sich keinerlei Änderung der Parameter.

Nach Exposition gegen 180 ppm CO fand sich lediglich eine signifikante Erhöhung der Plättchenaggregation, die übrigen rheologischen Parameter blieben unbeeinflusst. Dies stimmt mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen in der Expositionskammer überein (91). Zudem wurde durch einen Vergleich von Experimenten mit verschiedenen CO-Konzentrationen 200 ppm als Grenzkonzentration ermittelt, bei der es noch nicht zu einem Ansteigen der Blutviskosität über eine, wohl katecholamininduzierte, Hämatokriterhöhung kommt (91). Daß es sich bei 180 ppm CO um eine günstige Versuchskonzentration handelt, zeigte sich auch im Erreichen eines, einem mittelstarken Raucher entsprechenden COHb-Spiegels.

Durch dieses Experiment, wie auch durch frühere Untersuchungen in der "Rauch"-Kammer (91), wurde gezeigt, daß bereits eine vierstündige Exposition gegen Kohlenmonoxid in niedriger Konzentration Thrombozyten in einen Reizzustand überführt. Dabei war die Aggregationsneigung erhöht und die Bereitschaft, auf dem Endothel anzuhaften (Adhäsion). Dieser Vorgang könnte durchaus der Beginn in der Entstehung einer Angiopathie und evtl. der Arteriosklerose sein, so daß der Thrombozyt eine Schlüsselfigur (76) darstellen würde. Daß es sich hier wohl um einen zentralen Mechanismus handelt, wird dadurch belegt, daß auch durch andere Reize die Thrombozytenfunktion in gleicher Weise beeinflusst werden kann. So gelang dies in der eigenen Arbeitsgruppe durch lokale Einwirkung wie Eisreiz, Adrenalinreiz, Stromstoß, sowie systemisch durch Infusion von Fettsäuren, Cholesterinfütterung, Streptozotозindidiabetes und Hypertonie (73,76,84).

Auch andere Autoren haben Gleiches gefunden. So wiesen Strolin-Benedetti et al. (124) eine signifikant erhöhte Plättchenadhäsivität bei Rauchern nach.

Bierenbaum et al. (16) fanden nach Zigarettenrauchgenuß beim Menschen eine signifikante Erhöhung der Plättchenaggregation. Im tierexperimentellen Bereich fand z.B. Oversohl (97) bei mit cholesterinreicher Diät gefütterten Kaninchen eine gesteigerte Aggregation der Thrombozyten, sowie eine Adhäsion von Thrombozyten auf der Arterienwand.

Neben der Beeinflussung der Thrombozyten haben wir nach CO-Exposition transmissionselektronenmikroskopisch (in Zusammenarbeit mit Prof. Staubesand) intraendotheliale Veränderungen gesehen. Eine vermehrte Thrombozytenadhäsion wurde auch hier bestätigt. Ob diese Veränderungen nun Folge einer Schädigung durch die anhaftenden, sich in einer Reizform befindlichen Thrombozyten sind oder die Auswirkung einer möglichen Hypoxie der Arterienwand, kann nicht entschieden werden.

Die Theorie der Entstehung einer Arterienwandhypoxie wird gestützt von einer Untersuchung durch Schneidermann (116), der durch Computersimulation der Arterienwand unter Verwendung von COHb-Spiegeln, wie sie routinemäßig bei Rauchern gefunden werden, eine signifikante mittlere Hypoxie nachwies. In einer transmissionselektronenmikroskopischen Studie der Koronararterien von CO-exponierten Affen fand Thomsen (128) deutliche Veränderungen der Arterienwand, wie z.B. interzelluläre Spalten im Endothel und subendothelial ein Ödem und eine Infiltration monozytenähnlicher Zellen. Ähnliche Ergebnisse haben auch wir gefunden (s.o.). Bedeutend bei unseren transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen ist, daß die Thrombozytenadhäsionen Überwiegend intraendothelialen Schädigungsherden zugeordnet werden können.

Diese Schädigungsherde könnten Folge einer hypoxischen Schädigung von Endothelzellen oder einer "release reaction" gereizter Thrombozyten sein. Die Thrombozytenadhäsion dürfte zum anderen das Vorstadium zur Proliferation und zum Einwandern von Mediamuskelzellen in die Intima darstellen, wie es von Ross und Glomset (102,103,104) beschrieben wurde. Wie oben schon angedeutet, könnte umgekehrt der intraendotheliale

Schädigungsherd die Thrombozyten zum Anhaften bringen, wie es bei der Reparation von Endotheldefekten gesehen wird (37). Die Tatsache, daß medikamentös die Aggregations- und Adhäsionsbereitschaft der Thrombozyten so vermindert werden kann, daß das Fortschreiten einer obliterierenden Gefäßerkrankung gebremst wird (82), dürfte ein weiterer Hinweis für die zentrale Stellung des Thrombozyten in der Entstehung der Arteriosklerose sein.

Um eine endgültige Klärung herbeizuführen, sind sicherlich weitere Untersuchungen erforderlich, insbesondere Langzeitstudien, bei denen neben der Untersuchung der Endotheloberfläche der transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchung der Gefäßwandschichten mit histochemischen Analysen große Bedeutung beigemessen wird.

Am Schluß soll nochmals darauf hingewiesen werden, daß in Übereinstimmung mit anderen Autoren (in der Literaturübersicht aufgeführt) durch dieses Experiment gezeigt wird, daß das Kohlenmonoxid als wesentlicher Bestandteil des Zigarettenrauches eine atherogene Potenz besitzt. Ein indirekter, jedoch wichtiger Beweis für die Bedeutsamkeit des Kohlenmonoxids konnte durch die simultan durchgeführten Versuche mit Zigarettenrauchexposition (unter angeglichenen Bedingungen) geliefert werden. Die dabei gefundenen Ergebnisse unterscheiden sich nicht wesentlich von denen nach Kohlenmonoxidexposition.

Um eine weniger schädliche Zigarette herstellen zu können, ist es also notwendig, neben dem Nikotin auch oder besonders die Entstehung von CO zu reduzieren. Auch wenn z.B. am Arbeitsplatz die MAK-Werte für CO nicht längerfristig überschritten werden, so ist zu bedenken, ob nicht durch zusätzliches, wenn auch nur geringes aktives oder auch passives Rauchen atherogene COHb-Spiegel im Blut erzeugt werden.

VI. Zusammenfassung

Es wurden fünf durchschnittlich 3-4 Monate alte und 16 kg schwere, männliche, unkastrierte Miniaturschweine einem CO-Luftgemisch bei einer mittleren CO-Konzentration von 180 ppm, das über eine dichtschießende Maske eingeatmet wurde, einmalig über vier Stunden exponiert.

Zusätzlich wurden ein Langzeitversuch mit einer CO-Exposition von je vier Stunden über vier Tage, sowie ein Regressionsversuch, bei dem die Untersuchungen sieben Tage nach vierstündiger CO-Exposition vorgenommen wurden, durchgeführt. Die dabei erreichten COHb-Werte von durchschnittlich 8% entsprechen den Werten von mittelstarken Rauchern. Eine Kontrollgruppe von fünf Tieren wurde gegen synthetische Luft unter den gleichen äußeren Bedingungen exponiert. Dabei fand sich nach CO-Exposition eine signifikante Erhöhung der Thrombozytenaggregation; sämtliche anderen blut-rheologischen Parameter blieben unbeeinflusst.

Transmissionselektronenmikroskopisch zeigten sich bei CO-exponierten Tieren im Vergleich zur Kontrollgruppe deutliche Endothelzellveränderungen.

Rasterelektronenmikroskopisch fanden sich im Vergleich zur Exposition gegen synthetische Luft nach CO-Exposition deutlich mehr Thrombozytenadhäsionen auf scheinbar intaktem Endothel. Die Ergebnisse des Langzeitversuches zeigten im Vergleich zum Eintagesversuch keine wesentlichen Unterschiede. Der Regressionsversuch zeigte Werte, die nahezu denen nach Exposition gegen synthetische Luft entsprachen.

Die aus dem Experiment gewonnenen Daten lassen erkennen, daß das Kohlenmonoxid ein bedeutsamer schädigender Bestandteil des Zigarettenrauches ist. CO in niedriger Konzentration ist in der Lage, die Thrombozytenaggregation zu erhöhen und die Thrombozyten auf scheinbar oberflächlich intaktem Endothel zum Anhaften zu bringen.

Dieser Mechanismus wird als Initialphase in der Entstehung der Arteriosklerose diskutiert.

Da auch deutliche Endothelzellveränderungen gesehen wurden, ist es sicherlich erforderlich, weitere Studien in dieser Richtung, sowie Langzeitexperimente, die über Wochen und Monate gehen, durchzuführen.

Will man das Arterioskleroserisiko des Zigarettenrauchens vermindern, so ist es offenbar erforderlich, nicht nur das Nikotin sondern auch das Kohlenmonoxid zu reduzieren.

Überdies sollte der Umweltbelastung durch Kohlenmonoxid und der Belastung am Arbeitsplatz in der Zukunft mehr Bedeutung beigemessen werden.

VII. Literaturverzeichnis

1. Arkel, Y.S.:
Alteration in second phase platelet aggregation associated with an emotionally activity
Thromb Haemostas 38(2) (1977): 552-61
2. Armitage, A.K.:
The effects of carbon monoxid on the development of atherosclerosis in the White Carneon pigeon
Atherosclerosis 23 (1976): 333
3. Aronow, W.S.
Effect of carbon monoxide on cardiovascular disease
Prev. Med. 8 (3) (1979): 271-8
4. Aronow, W.S.:
Effect of 4% carboxy hemoglobin on human performance in cardiac patients
Prev. Med. 8 (5) (1979): 562-6
5. Aronow, W.S.:
Effect of non-nicotine cigarettes and carbon monoxid on angina
Circulation 61(2) (1980): 262-5
6. Aronow, W.S.:
Cigarette smoking, carbon monoxide, nicotine and coronary disease
Prev. Med. 4 (1975): 95-99
7. Aronow, W.S.:
Effect of cigarette smoking and of carbon monoxide on coronary heart disease
Chest 70 (1976): 4
8. Astrup, P.:
Model studies linking carbon monoxid and/or nicotine to arteriosclerosis and cardiovascular disease
Prev. Med. 8 (3) (1979): 295-302

9. Astrup, P.:
Some physiological and pathological effects of moderate carbon monoxide exposure
Brit. Med. J. 1 (1972): 447
10. Astrup, P.:
Studies on carbon monoxide and nicotine in "Smoking and health . I. Modifying the risk for the smoker" (E.L. Wynder, D. Hoffmann and G.B. Gori, Eds.) pp. 331-341.
U.S. Department of Health, Education and Welfare (1976)
11. Astrup, P.:
Effect of hypoxia and of carbon monoxide on experimental atherosclerosis
Ann. Intern. Med. 71 (1969): 426-427
12. Astrup, P.; Kjeldsen K.; Wanstrup, J.:
Enhancing influence of carbon monoxide on the development of atheromatosis on cholesterol-fed rabbits
J. Atheroscler. Res. 7 (1967): 343-354
13. Astrup, P.:
Carbon monoxide, smoking and atherosclerosis
Med. Clin. N. Amer. 58 (1974): 323-350
14. Auerbach, O.; Carter, H.W.; Garfinkel, L.; Hammond E.C.:
Cigarette smoking and coronary artery disease. A macroscopic and microscopic study
Chest 70 (1976): 697-705
15. Benditt, E.P.:
Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques and some implications
Circulation 50 (1974): 650-652
16. Bierenbaum, M.L.; Fleischmann, A.I.; Stier, A.; Somol, S.H.; Watson, P.B.:
Effect of cigarette smoking upon in vivo platelet function in man
Thromb. Res. 12 (1978): 1051-1057

17. Blumenthal, H.T.; Lansing Al.; Wheeler P.A.:
Calcification of the media of the human aorta and
its relation to intimal arteriosclerosis, aging and
disease.
Am J Pathol 20 (1944): 665-679
18. Breddin, K.:
Enhanced platelet aggregation as a risk factor for
vascular disease and its thromboembolic complications
Acta Clin Belg 30 (3) (1975): 195-203
19. Breddin, K.:
Morphologic platelet changes in vitro and their
effect on platelet aggregation tests
Thromb Diath Haemorrh 33 (2) (1975): 567
20. Breddin, K.; Grun, H.; Krzywanek, H.J.; Schremmer, W.P.:
Messung der spontanen Thrombozytenaggregation, Plätt-
chenaggregationstest III, Methodik
Klin. Wschr. 53 (1975): 81-89
21. Bustad, L.K.; Horstmann, V.G.; England, D.C.:
Development of Hanford miniature swine
In: Swine in biochemical research (1965): 769-774
Proc. Int. Symp. Richland, USA
22. Cella, G.:
Blood viscosity and red cell deformability in peri-
pheral vascular disease
Haematologica (Pavia) 64 (5) (1979): 611-15
23. Collier, C.R.:
Oxygen affinity of human blood in presence of carbon
monoxid
J Appl Physiol 40 (3) (1976): 487-90
24. Cucu, F.:
Carbon monoxid and its implications in atherosclerosis
etiopathogeny
Med. Interne 16 (3) (1978): 229-42
25. Dahme, E.:
Das Schwein, ein Versuchstier für die experimentelle
Arterioskleroserecherche
Z. ges. exp. Med. 145 (1968): 305

26. Davies, R.F.; Topping, D.L.; Turner, D.M.
The effect of intermittent Carbon Monoxide.
Exposure on experimental Atherosclerosis in the
rabbit
Atherosclerosis 24 (1976): 527-536
27. Dettmers, A.:
Die Züchtung eines neuen Versuchstiers, des Minia-
turschweins, in Amerika
Z. Tierzüch. Züch. Biol. 68 (1966): 37-41
28. Djalalatti, M.:
pH-induced platelet ultrastructural alterations. A
possible mechanism for impaired platelet aggregation
Arch Surg. 114 (6) (1979): 707-10
29. Downie, H.G.; Mustard G.F.; Rowsell, H.C.
Swine atherosclerosis: the relationship of lipids
and blood coagulation to its development
Ann. N.Y. Acad.Sci. 104 (1963): 539-562
30. Dreyfuß, F.; Zahavi, J.:
Adenosine diphosphate - included platelet aggre-
gation in myocardial infarction and ischaemic
heart disease
Atherosclerosis 17 (1973): 107
31. Duguid, J.B.:
Thrombosis as a factor in the pathogenesis of
aortic atherosclerosis
J. Pathol Bact 60 (1948): 57-61
32. Duguid, J.B.:
Mural thrombosis in arteries
Br. Med. Bull 11 (1955): 36-38
33. Duguid, J.B.:
The thrombogenic hypotheses and its implications
Postgrad Med J 36 (1960): 226-29
34. Dupont, P.A.:
The relationship of plasma fibrinogen, erythrocyte
flexibility and blood viscosity
Thromb. haemostas 38 (3) (1977): 660-7

35. Frost, H.; Hess, H.; Richter, D.:
Untersuchungen zur Pathogenese arterieller Verschluß-
krankheiten
Klin.Wschr. 20 (1968): 58

36. Frost, H.:
Zur Pathogenese obliterierender Arterienprozesse
bei Hypercholesterinämie
Thrombos. Diath. Haemorrh. (Stuttgart) XXII (1969):
351

37. Frost, H.; Hess, H.:
II. Beobachtungen mit dem Rasterelektronenmikroskop
über die Reparation von Endotheldefekten an Arterien
Klin.Wschr. 47 (1969): 245

38. Goldsmith, J.R.; Aronow, W.S.:
Carbon Monoxide and Coronary Heart Disease: A Review
Envir.Res. 10 (1975): 236-248

39. Gori, G.B.:
Reduction of carbon monoxid in cigarette smoke
Prev.Med. 8 (3) (1979): 358-68

40. Grigoleit, H.-G.; Leonhardt, H.; Jacobi, G.:
Auswirkungen von Zigarettenrauchen und oralen Kontra-
zeptiva auf die Erythrozytenverformbarkeit
Mikrorheologische Untersuchungen an Gesunden
Dtsch. Med. Wschr. 103 (1978): 339-341

41. Grigoleit, H.-G.:
Blood and plasma viscosity as a basis for clinical
hemorheology. Studies on 3 species
Med. Welt 29 (21) (1978): 893-6

42. Gross, R.; Schölmerich, P.:
Lehrbuch der Inneren Medizin, 5. Aufl.
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart(1977): 196-202

43. Haft, J.I.:
Role of blood platelets in coronary artery disease
Am.J.Cardiol. 43 (6) (1979): 1197-206

44. Haft, J.I.:
Effect of emotional stress on platelet aggregation
in humans
Chest 70 (1976): 501-505
45. Heliövaara M.:
Smoking, carbon monoxide an atherosclerotic diseases
Br. Med. J 1 (6108) (1978): 268-70
46. Hess, H.; Marshall, M.; Mallasch, M.:
Zur Pathogenese obliterierender Arteriopathien.
Med. Welt 25 (1974): 1180-85
47. Hess, H.:
Smoking and arterial vascular diseases
Med. Welt 27 (15) (1976): 697-9
48. Hess, H.:
Neue Überlegungen zur Physiopathologie ob-
literierender Angiopathien
Fortschr. Med. 88 (1970): 833-838, 923-928
49. Hess, H.:
Die Bedeutung der Blutplättchen für die Patho-
genese der arteriellen Verschlusskrankheiten
Verh.Dtsch.Ges.Kreislaufforsch. 40 (1975):115-21
50. Hess, H.; Marshall, M.:
Influence of platelets on the integrity of the
vessel wall
Adv. Exp. Med. Biol. 63 (1975): 393-98
51. Hess, H.; Marshall, M.; Mallasch, M.:
Eine einheitliche Theorie der Morphogenese aller
obliterierenden Angiopathien
VASA 3 (1974): 373-85
52. Holmlund, G.; Tiilikainen A.; Pluttinen, K.:
The effect of HLA antibodies on platelet aggre-
gation
Scand.J.Immunol. 6 (1977): 157-159

53. Hugod, C.:
Effect of carbon monoxide exposure on aortic and coronary intimal morphology in the rabbit. A reevaluation.
Atherosclerosis 30 (4) (1978): 333-42
54. Isager, H.; Hagerup, I.:
Relationship between cigarette smoking and high packed cell volume and hemoglobin levels
Scand. J. Haematol. 8 (1971): 241-244
55. Kalendovsky, Z.; Austin, J.; Steele, P.P.:
Increased platelet aggregatability in young patients with stroke
Arch. Neurol. 32 (1975): 13
56. Kalich, J.; Krumbacher, K.; Ruf, B.:
Über die Erfahrungen mit Zucht und Haltung, sowie einige physiolog. Daten des Hanford-Miniaturschweins
Z.ges.exp.Med.145 (1968): 312-325
57. Kjeldsen, K., Wanstrup, J.; Astrup, P.:
Enhancing influence of arterial hypoxia on the development of atheromatosis on cholesterol-fed rabbit.
J.Atheroscler.Res.8 (1968): 835
58. Kjeldsen K.; Astrup, P.; Wanstrup, J.:
Ultrastructural intimal changes in the rabbit aorta after moderate carbon monoxide exposure
Atherosclerosis 16 (1972): 67-82
59. Klein, K.; Stachelberger, H.; Sinzinger H.; Silberauer; K. Auerswald, W.:
Methoden zur rasterelektronenmikroskop. Untersuchung von Thrombozyten
Vasa Bd 9 (2) (1980): 127
60. Klimisch, H.J.:
Uptake of carbon monoxide in blood of miniture pigs and other mammals.
Toxicology 3 (3) (1975): 301-10

61. Knipping, G.M.J.; Kostner, G.M.; Holasek, A.:
Studies on the composition of pig serum lipo-
proteins. Isolation and characterisation of
different apoproteins.
Biochem. Biophys. Acta 393 (1975): 88-89

62. Kraytman, M.:
Mechanism of arterial and venous thrombosis
M. Acta Clin. Belg. 30 (3) (1975): 167-73

63. Kwaan, H.C.; Colwell, J.A.; Cruz, S.; Suwanwela, N.;
Dobbie, J.C.:
Increased platelet aggregation in diabetes mellitus
J. Lab. Clin. Med. 80 (1972): 236

64. Lansing, A.I.; Alex, M.; Rosenthal, T.B.:
Calcium and elastin in human arteriosclerosis
J. Gerontol 5 (1950): 112-19

65. Leonhardt, H.:
Whole blood- and plasma viscosity in the presence
of coronary risk factors. Investigations concerning
the characteristics of blood flow and viscosity-
effective plasma components in patients with coronary
risk factors and risk factor combinations
Klin. Wochenschr. 55 (10) (1977): 481-7

66. Leonhardt, H.:
Alterations in blood- and plasma-viscosity of
patients with risk-factors
Med. Klin. 70 (49) (1975): 1997-2000

67. Levites, R.; Haft, J.I.:
Effects of exercise-induced stress on platelet
aggregation
Cardiology 60 (5) (1975): 304-14

68. Luginbühl, H.; Jones, J.E.T.:
The morphology of spontaneous lesions in aged swine
In: Roberts, J.C.; Straus, R.: Comparative athero-
sclerosis (1965): 3-11; Harper & Row, New York

69. Lydtin, H.; Pieper, M.; Kusus, T.; Schnell, K.;
Zöllner, N.:
Die Implantation von Verweilkathetern in die Vena
portae, Vena cava, den rechten Vorhof und in den
Magen des Miniaturschweins.
Z. ges. exp. Med. 149 (1969): 279-82
70. Marshall, M.; Lydtin, H.; Krawietz, W.; Schuckert, G.;
Lohmöller, R.; Zöllner, N.:
Erfahrungen mit einer neuen Anästhesie am Miniatur-
schwein.
Zbl. Vet. Med. 19 (1972): 214-218
71. Marshall, M.; Lisson, G.:
Untersuchungen zur Frage der Abdichtung von Kunststoff-
gefäßprothesen.
VASA 5, (1976): 122
72. Marshall, M.; Lydtin, H.; Krawietz, W.; Hagen, R.;
Schuckert, G.; Hess, H.; Zöllner, N.:
Das Miniaturschwein als Versuchstier in der experi-
mentellen Medizin.
Res. exp. Med. 157 (1972): 300-316
73. Marshall, M.:
Tiermodelle zur Atheroskleroseforschung.
VASA 7 (3) (1978): 313-321
74. Marshall, M.:
Experimental studies on the risk factor smoking.
VASA 7 (4) (1978): 389-97
75. Marshall, M.; Hess, H.:
New findings concerning pathogenesis and nonsurgical
treatment of peripheral arterial diseases.
VASA 7 (1978): 49-53
76. Marshall, M.; Hess, H.:
Der Thrombozyt - Schlüsselfigur in der Entstehung
obliterierender Angiopathien.
Coll. Med. 30 (1975): 1-12

77. Marshall, M.:
Atheroskleroseforschung: Neue Impulse durch das
Miniaturschwein.
Ärztll. Praxis 25 (1973): 1751-57
78. Marshall, M.:
Atheroskleroseforschung heute.
Ärztll. Praxis 28 (1976): 29-32
79. Marshall, M.:
Arteriosklerose: Fakten und Hypothesen.
Münch. Med. Wschr. 119 (1977): 7-9
80. Marshall, M.:
Klinische Konsequenzen der "thrombozytogenen"
Atherogenesetheorie.
Münch. Med. Wschr. 121 (1979): 1209-1210
81. Marshall, M.:
Atherogenese: Experimentelle Untersuchungen
zur Pathogenese obliterierender Arteriopathien
am Miniaturschwein.
Münch. Med. Wschr. 121 (1979): 1211-1218
82. Marshall, M.:
Aktuelles in Pathogenese, Diagnostik und Therapie
der arteriellen Durchblutungsstörungen.
Therapiewoche 30 (1980): 5769-80
83. Marshall, M.:
Experimental and clinical results concerning re-
gression of arteriosclerosis.
Folia angiologica 28 (1980): 80-84
84. Marshall, M.:
Experimentelle Untersuchungen über Hypertonie als
Angiopathierisikofaktor am Miniaturschwein.
Zbl. Vet. Med. A 27 (1980): 245-250
85. Marshall, M.:
Zur Pathogenese der Arteriopathien: Experimentelle
Untersuchungen über die frühe Pathogenese von Arterio-
pathien unter besonderer Berücksichtigung der Rolle
der Thrombozyten.
Fortschr. Med. 98 (1980): 177-179

86. Marshall, M.:
Angiopathie-Risiko inhalierendes Rauchen und die
weniger schädliche Zigarette.
Münch. Med. Wschr. 123 (1981): 415-19
87. Marshall, M.; Hess, H.:
Beeinflussung der Blutrheologie und Thrombozyten-
funktion durch Nikotin, Kohlenmonoxid und Zigaret-
tenrauch beim Miniaturschwein.
In: Müller-Wiefel, H.; Barras, J.P.; Ehringer, H.;
Krüger, M.: Mikrozirkulation und Blutrheologie-
Therapie der peripheren arteriellen Verschluss-
krankheit (1980): 136-140
88. Marshall, M.; Hess, H.:
Akute Wirkungen niedriger Kohlenmonoxidkonzentra-
tionen auf Blutrheologie, Thrombozytenfunktion und
Arterienwand beim Miniaturschwein.
Res. Exp. Med. 178 (1981): 201-210
89. Marshall, M.; Kott, H.; Hess, H.:
EKG- und Pulskurvenanalysen beim Hanford-Miniatur-
schwein. Voruntersuchungen über unblutige Erfassungs-
möglichkeiten einer Arteriosklerose.
Zbl. Vet. Med. A 24 (1977): 380-86
90. Marshall, M.; Quiros, J.F.B.; Hess, H.:
Wirkungen von Nikotin auf Plättchenaggregation und
Blutviskosität beim Miniaturschwein in vivo.
VASA 5 (1976): 287-92
91. Marshall, M.; Quiros, J.F.B.; Jander, R.; Hess, H.:
Wirkung von Tabakrauch und Kohlenmonoxid auf die
Thrombozytenaggregation in vivo beim Miniaturschwein.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 82 (1976): 1934-37
92. Marx, R.:
Arteriosclerosis and thrombocyte aggregation (edi-
torial)
Münch. Med. Wschr. 119 (44) (1977): 1413-14
93. Master, K.:
Carbon monoxid, atherosclerosis and natives of the
highlands of New Guinea
Eng. J. Med. 294 (10) (1976): 556-57

94. Mehta, P.;
Platelet aggregation across the myocardial vascular
bed in man: I. Normal versus diseased coronary
arteries
Thromb. Res. 14 (2-3) (1979): 423-32
95. Nicolaides, A.N.:
Blood viscosity, red-cell flexibility, haematocrit
and plasma-fibrinogen in patients with angina
Lancet 2 (8045) (1977): 943-45
96. Oversohl, K.; Mallasch, M.; Schmid-Schönbein, H.:
Untersuchungen über die Bedeutung von Cholesterin-
Belastung auf die Thrombozytenfunktion
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 80 (1974): 1449-50
97. Oversohl, K.:
Early arteriosclerosis with increased thrombocyte
aggregation
Münch. Med. Wochenschr. 119 (44) (1977): 1415-18
98. Paule, W.G.; Zemlenyi, T.K.; Rounds, P.E.; Blanken-
horn D.H.:
Light- and electron-microscopic characteristics of
arterial smooth muscle cell cultures subjected to
hypoxia of carbon monoxide
Atherosclerosis 25 (1976): 111
99. Penney, D.G.:
Hematologic changes in the rat during and after ex-
posure to carbon monoxide
J. Environ. Pathol. Toxicol. 2 (2) (1978): 407-15
100. Robinson, J.C.; Forbes, W.F.:
The role of carbon monoxide in cigarette smoking.
Carbon monoxide yield from cigarettes
Arch. environm. Hlth. 30 (1975): 425-34
101. Ramsey, J.M.:
The hematological effects of chronic, low level
exposures to carbon monoxide in rats
Bull Environ Contam Toxicol 13 (5) (1975): 537-42

102. Ross, R.; Glomset J.A.:
The pathogenesis of atherosclerosis. Part I
The New Eng. J. of Med. 295 (1976): 369-77
103. Ross, R.:
Platelets, endothelium and smooth muscle cells
in atherosclerosis
Adv. Exp. Med. Biol. 102 (1978): 135-141
104. Ross, R.; Glomset, J.A.; Kariya, B.; Harker, L.:
A platelet-dependent serum factor that stimulates
the proliferation of arterial smooth muscle cells
in vitro
Proc. Nat. Acad. Sci. 71 (1974): 1207-1210
105. Rowsell, H.C.; Mustard, J.T.; Downie, H.G.:
Experimental Atherosclerosis in Swine
Ann. N.Y. Acad. Sci. 127 (1965): 743-62
106. Sagone, A.L.:
Smoking as a cause of erythrocytosis
Ann. of Int. Med. 82 (1975): 512-15
107. Sano, T.; Boxer, M.G.J.; Boxer, L.A.; Yokoyama, M.:
Platelet sensitivity to aggregation in normal and
diseased groups. A method for assesment of platelet
aggregatability
Thromb. Diath. Haemorrh. 25 (1971): 524
108. Sarma, J.S.M.; Tillmanns, H.; Ikeda, S.; Bing, R.J.:
The effect of carbon monoxide on lipid metabolism
of human coronary arteries
Atherosklerosis 22 (1975): 193-98
109. Sarma, J.S.M.; Tillmanns, H.; Ikeda, S.; Grenier, A.:
Lipid metabolism in perfused human and dog coronary
arteries
Amer. J. Card. 35 (1975): 579-87
110. Scheidemandel, V.:
Kohlenmonoxid und koronare Herzerkrankung
Herz Kreisl. 6 (1974): 16-17

111. Scheidemandel, V.; Daum, S.:
Carboxyhämoglobinkonzentrationen in der Münchner
Population
Münchn.Med. Wchschr. 115 (1973): 109-12
112. Schievelbein, H.; Eberhardt, R.:
Die Wirkung von Tabakrauch auf das Gefäßsystem
Fortschr. Med. 34 (1972): 1249
113. Schievelbein, H.:
Evaluation of the role of carbon monoxide and nicotine
in the pathogenesis of arteriosclerosis and cardio-
vascular disease
Prev. Med. 8 (3) (1979): 379-89
114. Schmid-Schönbein, H.:
Factors operational in the anomalous viscosity of
blood: specific methods of quantification and bio-
logical significance
Arzneim. Forsch. 26 (6) (1976): 1231
115. Schmid-Schönbein, H.; Grunau, G.; Bräuer, H.:
Exempla Hämorheologica
Albert-Roussel Pharma GmbH (1980)
116. Schneidermann, G.
Carbon monoxide-induced arterial wall hypoxia and
atherosclerosis
Atherosclerosis 30 (1) (1978): 1-15
117. Siegenthaler, W.:
Klinische Pathophysiologie, 3. Auflage
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1976): 472-79
118. Siggaard-Andersen, J.; Petersen, B.; Hansen, T.;
Mellemegaard, K.:
Plasma volume and vascular permeability during
hypoxia and carbon monoxide exposure
Scand.J.clin.Lab.Invest. 22 (1968): 39
119. Sinapius, D.:
Die Entstehung subendothelialer Lipophagenherde
bei Coronarsklerose
Virchows Arch. A Path.Anat. 345 (1968): 169-75

120. Sinapius, D.:
Thrombogenesis in Arterien
Med. Welt 27 (1976): 1225-27
121. Steele, P.P.; Weilly, H.S.; Davies, H.; Genton E.:
Platelet function studies in coronary artery disease
Circulation, 48 (1973): 1194
122. Stender, S.; Astrup, P.; Kjeldsen, K.:
The effect of carbon monoxide on cholesterol in the
aortic wall of rabbits
Atherosklerosis 28 (1977): 357-67
123. Stonesifer L.D.:
How carbon monoxide reduces plasma volume
N. Engl. J. Med. 299 (6) (1978): 311-12
124. Strolin-Benedetti, M.; Gutty, D.; Strolin, P.:
A comurative study of the effect of oral contra-
cepives and cigarette smoking on platelet ad-
hesiveness
Haemostasis 5 (1976): 14-20
125. Strong, J.P.; Richards, M.L.:
Cigarette smoking and atherosclerosis in autopsied
men
Atherosclerosis 23 (1976): 451-76
126. Tegris, A.S.; Earle, F.L.; Curtis, J.M.:
Normal hematological and biochemical parameters
of young miniature swine
In: Swine in biochemical research (1965): 575-96
Proc. Int. Symp., Richland USA
127. Thoma, R.:
Über die Abhängigkeit der Bindegewebsneubildung
in der Arterienintima von mechanischen Bedingungen
des Blutumlaufes
Virchows Arch. (Path.Anat.) 93 (1983): 443-505
128. Thomsen, H.K.:
Carbon monoxide-induced atherosclerosis in primates.
An electron-microscopic study on the coronary
arteries of Macaca irus monkeys
Atherosclerosis 20 (1974): 233-240

129. Topping, D.L.:
Metabolic effects of carbon monoxide in relation
to atherogenesis
Atherosclerosis 26 (2) (1977): 129-37

130. Turner, D.M.:
Carbon monoxide, tobacco smoking and the patho-
genesis of atherosclerosis
Prev. Med. 8 (3) (1977): 303-9

131. Turner, D.M.; Lee, P.N.; Roe, F.J.C.; Gough, K.J.:
Atherogenesis in the White Carneau Pigeon. Further
studies of the role of carbon monoxide and dietary
cholesterol.
Atherosclerosis 34 (4): (1979): 407-17

132. Vacca, C.; Cifaldi, S.; Vigganì, G.; Pizzuti, G.P.;
Colantuoni, A.:
Influenza della iperventilazione volontaria sulla
viscosità del sangue
Minerva Med. 67 (36) (1976): 2356-8

133. Wald, N.:
Use of carboxyhaemoglobin levels to predict the
development of diseases associated with cigarette
smoking
Thorax 30 (2) (1975): 133-40

134. Wald, N.; Howard, S.; Smith, P.G.; Kjeldsen, K.:
Association between atherosclerotic diseases and
carboxyhaemoglobin levels in tobacco smokers
Brit. Med. J. 1 (1973): 761-65

135. Walton, K.W.:
Pathogenetic mechanism in atherosclerosis
Am. J. Card. 25 (1975): 512

136. Wanstrup J.; Kjeldsen, K.; Astrup, P.:
Acceleration of spontaneous intimal-subintimal
changes in rabbit aorta by a prolonged moderate
carbon monoxide exposure
Acta path. Scand 75 (1969): 353-62

137. Ward, A.S.:
Platelet aggregation in patients with peripheral
vascular disease
Atherosclerosis 29 (1978): 63-68
138. Weber, A.:
Wirkungen niedriger Kohlenmonoxidkonzentrationen
auf den Menschen
Sozial- und Präventivmedizin 20 (1975): 218
139. Young, S.H.; Stone, H.L.:
Effect of a reduction in arterial oxygen content
(carbon monoxide) on coronary flow
Aviat. Space, Environm., Med. (1976): 142
140. Zenz, C.:
The epidemiology of carbon monoxide in cardiovas-
cular disease in industrial environments: A review
Prev. Med. 8 (1979): 279-289
141. Zöllner.; Tacconi, M.:
Über die Konzentration einiger Lipide im Serum und
Organen des Miniaturschweins und ihre Abhängigkeit
vom Alter
Z. Ges. Exp. Med. 145 (1968): 326-34

Lebenslauf

14.9.1950 in Habersam, Kreis Mühldorf/Inn, als Sohn des Gärtnereibesitzers Johann Thaller und seiner Ehefrau Cäcilie geboren

1957 - 1965 Volksschule in Lohkirchen

1965 - 1968 Gärtnerlehre in Freising-Weißenstephan mit abschließender Gehilfenprüfung

1966 - 1969 Berufsaufbauschule in Freising und Mühldorf mit Erwerb der gewerblich-technischen Fachschulreife

1969 - 1973 Tätigkeit als Gärtnergehilfe im Botanischen Garten in München und Besuch des Städtischen Abendgymnasiums

8.6.1973 Abitur

1973 - 1980 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München

5.5.1980 Ärztliche Prüfung

19.6.1980 Approbation als Arzt

19.6.1980 Verehelichung mit Maria Steinkirchner

Seit 1.8.1980 Tätigkeit als Assistenzarzt am Rotkreuz-krankenhaus in München und an den Kreis-krankenhäusern Freising und Mühldorf/Inn.

